

**Untersuchung von Einflußfaktoren auf den
Stratum corneum-Klebestreifenabrißtest und
deren Auswirkungen auf die hervorgerufene
Stratum corneum-Barriere-Schädigung**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Michael Flach

geboren am 7. Juni 1977 in Zeulenroda

Gutachter

1. Prof. Dr. med. P. Elsner, Klinik für Hautkrankheiten, Universitätsklinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena.

2. Prof. Dr. med. R. Schiele, Institut für Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Umweltmedizin und Umwelthygiene, Universitätsklinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena.

3. PD Dr. med. habil A. Bauer, MPH, Klinik und Poliklinik für Dermatologie am Universitätsklinikum Dresden.

Tag der öffentlichen Verteidigung: 7. Dezember 2010

Abkürzungsverzeichnis

Δ	Differenz
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
AU	nichtspezifizierte Maßeinheit (Arbitrary Unit)
BSA	bovines Serumalbumin
cm	Zentimeter
cm^2	Quadratzentimeter
g	Gramm
h	Stunde
HCl	Wasserstoffchlorid
KCl	Kaliumchlorid
kPa	Kilopascal
l	Liter
M	Molare Masse (g/mol)
m^2	Quadratmeter
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mol	Mol
MW	Mittelwert
N	Newton
NaOH	Natriumhydroxid
nm	Nanometer
pH	pH-Wert
SA	Standardabweichung
SC	Stratum corneum
sec	Sekunde
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust (Transepidermal water loss)
U	Umdrehungen
μg	Mikrogramm
μl	Mikroliter

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	6
2	Einleitung.....	8
2.1	Die Haut.....	8
2.2	Das Stratum corneum als Ort der epidermalen Barriere	10
2.3	Der Klebestreifenabrißtest	13
2.4	Nichtinvasive biophysikalische Messungen	14
2.4.1	Messung des Transepidermalen Wasserverlusts (TEWL).....	14
2.4.2	Messung der Hornhautfeuchte (Corneometrie).....	17
2.4.3	Messung des epidermalen pH-Wertes (pH-Metrie).....	17
2.4.4	Messung der Hautfarbe (Chromametrie).....	18
2.5	Zielsetzung	19
3	Material und Methoden.....	22
3.1	Versuchsgruppe.....	22
3.2	Methoden.....	23
3.2.1	Versuchsbedingungen	23
3.2.2	Klebestreifenabriß.....	24
3.2.3	Nicht-invasive biophysikalische Messungen.....	27
3.2.4	Spektroskopische Messungen	30
3.2.5	Kolorimetrische Proteinbestimmung	30
3.2.6	Statistische Analyse	31
4	Ergebnisse.....	33
4.1	Der Einfluß von Anpreßdruck und Anpreßdauer.....	33
4.2	Der Einfluß verschiedener Anpreßmethoden	36
4.3	Der Einfluß verschiedener Klebematerialien	39
4.4	Der Einfluß unterschiedlicher anatomischer Lokalisationen.....	42
4.5	Der Einfluß einer okklusiven Behandlung	47
4.6	Barriereregeneration	48
4.7	Korrelation zwischen spektroskopisch und kolorimetrisch bestimmter Masse des entfernten Stratum corneum	50
5	Diskussion.....	51
5.1	Unterschiedliche Anpreßdrücke und –zeiten.....	51

5.2	Unterschiedliche Anpreßmethoden	52
5.3	Unterschiedliche Klebematerialien	53
5.4	Unterschiedliche anatomische Lokalisationen	54
5.5	Interindividuelle Unterschiede.....	55
5.6	Auswirkungen auf Hautfarbe, Hornhautfeuchtigkeit und pH.....	57
5.7	Okklusionsbehandlung	59
5.8	Barriereregeneration	61
5.9	Bestimmung der SC-Masse mit kolorimetrischer und spektroskopischer Methode.....	62
6	Schlußfolgerung....	65
7	Literaturverzeichnis.....	67
8	Abbildungsverzeichnis.....	81
9	Ehrenwörtliche Erklärung.....	83
10	Danksagung.....	84

1 Zusammenfassung

Der Klebestreifenabrißtest (tape stripping) ist ein etabliertes hautphysiologisches Untersuchungsverfahren. Seine Hauptanwendungsgebiete sind Untersuchungen zur Barrierefunktion des Stratum corneum (SC) und pharmakokinetische Studien zur Penetration von Lokaltheraeutika und Fremdstoffen. Trotz oder gerade wegen seiner breiten Anwendung ist der Test nicht standardisiert und es existieren unterschiedliche Protokolle.

Ziel dieser Arbeit war es, unterschiedliche Einflußfaktoren auf den Klebestreifenabrißtest und die hervorgerufene Barrierschädigung zu untersuchen und basierend auf diesen Ergebnissen einen Vorschlag für ein standardisiertes Protokoll für den Klebestreifenabrißtest zu entwerfen. Dazu wurden bei zwölf hautgesunden Probanden in vier unterschiedlichen Körperregionen (Unterarm, Oberarm, Rücken, Wange) Klebestreifenabriss durchgeführt. Die Klebestreifen wurden mit verschiedenen Anpreßdrücken (2 N, 7 N) und Anpreßzeiten (2 sec, 10 sec) auf die Hautoberfläche aufgebracht. Zum Ausgleich der durch die Hautfölderung entstehenden Furchen innerhalb des SC kamen verschiedene Methoden zum Anpressen der Klebestreifen zur Anwendung (Stempel bei gleichzeitigem Straffen der Haut, Roller, Andrücken mit dem Daumen). Neben einem Haushaltsklebeband wurden zwei speziell für den Klebestreifenabrißtest entwickelte Klebescheiben (D-Squame®, Corneofix®) getestet. Das Ausmaß der SC-Barrierschädigung wurde durch Messungen des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) zu definierten Zeitpunkten vor, während und nach den Klebestreifenabrissen bestimmt. Zusätzlich erfolgten Messungen der Hautfarbe, Hornhautfeuchte sowie des pH-Wertes auf der Hautoberfläche vor und nach den Klebestreifenabrissen. Zur Bestimmung der durch die Klebestreifen entfernten SC-Masse wurden zwei verschiedene Verfahren angewandt und miteinander verglichen, zum einen eine kolorimetrische Proteinbestimmung, zum anderen ein kürzlich entwickeltes spektroskopisches Verfahren.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß höhere Anpreßdrücke sowie längere Anpreßzeiten zu einer ausgeprägteren SC-Barrierschädigung föhren. Ebenso konnte durch eine Variation der Anpreßmethoden, die die Hautfölderung ausgleichen, eine stärkere SC-Barrierschädigung erreicht werden. Zwischen verschiedenen

Klebmaterialien konnten signifikante Unterschiede im Ausmaß der Barrierschädigung gezeigt werden. Geschwindigkeit und Höhe des TEWL-Anstiegs variierten bei Durchführung des Klebestreifenabrisses in verschiedenen Körperregionen merklich; dabei erwies sich die SC-Barriere in Regionen mit dünnerem SC, wie zum Beispiel der Wange, als deutlich vulnerabler gegenüber der durch wiederholte Klebestreifenabrisse verursachten Barriestörung. Eine 24stündige Okklusionsbehandlung vor Durchführung der Klebestreifenabrisse führte zu einer verstärkten Barrierschädigung.

Kolorimetrisches und spektroskopisches Proteinbestimmungsverfahren zeigten eine gute Korrelation, wobei letzteres Verfahren eine deutlich schnellere und kostengünstige Bestimmung erlaubt.

Für Anpreßmethoden, die zu einer schnellen und starken Barrierschädigung führten, konnte gezeigt werden, daß der TEWL nicht linear ansteigt; die ersten Klebestreifenabrisse bewirkten nur geringe Veränderungen des TEWL, während in tieferen SC-Schichten der TEWL überproportional anstieg. Die Kumulativmasse entfernten Proteins verhielt sich gegensätzlich: mit den ersten Abrissen wurde deutlich mehr Protein entfernt als mit Abrissen aus den basalen Schichten des SC.

Die durch Variation der Anpreßmethoden erzeugten Unterschiede im Ausmaß der SC-Barrierschädigung bedingen die Notwendigkeit der Beachtung und Steuerung der genannten Einflußfaktoren. Basierend auf den Untersuchungsergebnissen dieser Arbeit wird ein Vorschlag für die standardisierte Durchführung des Klebestreifen-abrißtests entworfen.

2 Einleitung

2.1 Die Haut

Die Haut bedeckt komplett die äußere Körperoberfläche und geht an den Körperöffnungen kontinuierlich in die Schleimhaut über, die die inneren Oberflächen auskleidet. Sie hat eine Fläche von 1,5-2 m², ihr Gewicht beträgt 10-15% des Gesamtkörpergewichts. Damit ist die Haut eines der größten Einzelorgane des Menschen. Sie gliedert sich von der Oberfläche in die Tiefe hin in drei Schichten: die Epidermis, die Dermis und die Hypodermis oder Subkutis. Die Dicke der Haut variiert regional zwischen 1-4 mm.

Die Epidermis besteht aus einem verhornenden Plattenepithel. Histologisch werden von basal nach apikal vier verschiedene Schichten unterschieden: das Stratum basale (1 Zellschicht), das Stratum spinosum (5-15 Zellschichten), das Stratum granulosum (1-3 Zellschichten) und das SC (5-10 Zellschichten). In dicker Epidermis (z.B. an Handflächen und Fußsohlen) findet sich zwischen Stratum granulosum und SC noch ein dünnes Stratum lucidum (McGrath 2004, Kanitakis 2002). Funktionell kann die Epidermis in drei Schichten eingeteilt werden. In der untersten Schicht, die aus dem Stratum basale besteht, findet eine fortwährende Regeneration des Epithels statt: Bei der Teilung epidermaler Stammzellen bilden sich Vorstufen von Keratinozyten, die in der sich nach apikal anschließenden Reifungszone, bestehend aus den Schichten des Stratum spinosum und granulosum, einen kontinuierlichen Differenzierungsprozeß durchlaufen (Houben et al. 2007, Schaefer und Redelmeier 1996). An der Oberfläche der Epidermis schließlich findet sich die Barrierschicht des SC mit terminal differenzierten, kernlosen und nun als Korneozyten bezeichneten Zellen und einer aus verschiedenen Lipiden aufgebauten Interzellulärsubstanz. Neben den Keratinozyten finden sich in der Epidermis Melanozyten, die die für die Pigmentierung der Haut und den damit zusammenhängenden UV-Schutz verantwortlichen Melanine bilden, weiterhin Langerhans-Zellen, die in immunologische Reaktionen involviert sind, sowie Merkelzellen, die als Mechanorezeptoren fungieren.

Die Grenze zwischen Epidermis und Dermis wird als dermoepidermale Junctionszone bezeichnet und besteht aus der eigentlichen epidermalen Basalmembran, die weiter in eine Lamina lucida und eine Lamina densa unterteilt wird, sowie der Zellmembran

der Keratinozyten im Stratum basale, die mit Hemidesmosomen in der Basalmembran verankert sind. Von der darunterliegenden Dermis inserieren Ankerfibrillen an der Basalmembran. Die dermoepidermale Junctionszone spielt eine wichtige Rolle für die Befestigung der Epidermis und Dermis und vermittelt den Stoffaustausch zwischen den beiden Geweben.

Die Dermis ist aus faserreichem Bindegewebe und dazwischenliegender Grundsubstanz aufgebaut. Beide werden von Fibroblasten, den vorherrschenden Zellen der Dermis, produziert. Als weitere zelluläre Bestandteile kommen in der Dermis Zellen der Abwehr (dermale Dendrozyten, Mastzellen, Makrophagen) sowie Mechanorezeptoren (Meißner-Tastkörperchen, Vater-Pacini-Lamellenkörperchen, Rufini-Körperchen) vor. Die Dermis wird gemeinhin in zwei Schichten unterteilt, das Stratum papillare und das Stratum reticulare. Die beiden Schichten unterscheiden sich durch Dichte und Anordnung ihrer Bindegewebsfasern. Das Stratum papillare erhält seinen Namen von den Papillen, mit denen es zahnförmig in entsprechende Vertiefungen der Epidermis hineinragt. Die Papillen vergrößern die Kontaktfläche zwischen Epidermis und Dermis und verbessern dadurch die Ernährung der Epidermis. Das Stratum reticulare besteht aus Bündeln von kollagenen (hauptsächlich Typ I) und elastischen Fasern. Dieses Fasernetzwerk erlaubt Dehnungen der Haut, ohne daß es zu einer Abnahme der Zerreißfestigkeit kommt. Die Dermis ist reich vaskularisiert, sie weist verschiedene Plexus, arteriovenöse Anastomosen und zahlreiche Lymphgefäße auf. Ebenfalls findet sich in der Dermis ein dichtes Netz von Nerven. Afferente Nerven leiten Reize von verschiedenen Rezeptororganen (Merkel-Zellen, Meißner-Tastkörperchen, Vater-Pacini-Lamellenkörperchen, Rufini-Körperchen), efferente Nerven (vorrangig aus dem sympathischen Nervensystem) dienen der Innervation von Blutgefäßen, Drüsen und der Mm. arrectores pilorum (McGrath 2004, Kanitakis 2002, Junqueira und Carneiro 2005).

Die Subkutis schließlich ist aus lockerem Bindegewebe aufgebaut, welches die Verbindung zu tiefer liegenden Strukturen des Körpers (Knochen, Muskeln, Faszien) herstellt. Auch findet sich in der Subkutis in der Regel Fettgewebe, welches als Baufett oder Depotfett dient (Junqueira und Carneiro 2005).

Die Aufgaben der Haut sind vielfältig. Sie ist nicht nur bloßes Hüllorgan. Eine der wichtigsten Funktionen ist zweifellos die des Schutzes vor mechanischen,

chemischen, physikalischen und mikrobiellen Einwirkungen. Dabei nimmt die Barrierefunktion gegenüber Wasserverlust aus dem Körperinneren eine besondere Rolle ein, erlaubt sie doch erst das Überleben von Organismen außerhalb des Wassers. Diese Barriere ist ganz überwiegend im SC angesiedelt. Ebenso wirkt diese Barriere gegen das Eindringen von Fremdstoffen in das Körperinnere. Für den Schutz vor mechanischen Einflüssen wie Druck, Zug und Dehnung sind vor allem das Bindegewebsgerüst der Dermis und zu einem geringeren Anteil auch das Fettgewebe der Subdermis verantwortlich. Die Melanozyten der Epidermis bilden die für die Absorption schädlicher ultravioletter Strahlung wichtigen Melanine. Für die Abwehr von Krankheitserregern stehen der Haut eine Reihe von aktiven und passiven Mechanismen zur Verfügung: der sogenannte Säureschutzmantel, der sich aus Sekreten von Schweiß- und Talgdrüsen zusammensetzt, schützt durch seinen leicht sauren pH vor Besiedlung durch pathogene Keime, während das SC eine zusätzliche mechanische Barriere für diese darstellt. Langerhanszellen und Lymphozyten sind Repräsentanten des Immunsystems (Chuong et al. 2002, Ebling 1992). Als Stoffwechselorgan ist die Haut in die Vitamin-D-Synthese und den Steroidmetabolismus eingebunden und, besonders der epidermale Anteil, Ort reger Lipidsynthese; teilweise fungiert sie als Exkretionsorgan (Reichrath 2007, Feingold 2007, Chuong et al. 2002). Auch bei der Thermoregulation spielt die Haut eine entscheidende Rolle. Durch ein reich ausgebildetes Netz arteriovenöser Anastomosen kann der dermale Blutfluß innerhalb eines weiten Spektrums angepaßt werden. Die Temperatur kann dann durch vier verschiedene Mechanismen (Verdunstung von Schweiß sowie Perspiratio insensibilis, Konvektion, Strahlung) an die Umgebung abgegeben werden (Simon 1997). Nicht zuletzt ist die Haut mit spezialisierten Rezeptoren für Berührung, Druck, Temperatur und Schmerz ein wichtiges Sinnesorgan. Als Grenzorgan zur Umwelt spielt die Haut zusätzlich eine nicht unwesentliche kommunikative Rolle.

2.2 Das Stratum corneum als Ort der epidermalen Barriere

Das SC ist die oberste Schicht der Haut und somit die Grenzfläche zur Umwelt. Es ist etwa 10 bis 20 µm dick und besteht aus durchschnittlich 12 bis 16 Zellagen, an stark beanspruchten Körperstellen auch aus deutlich mehr (Schaefer und Redelmeier

1996). Obwohl das SC die dünnste Schicht der Haut ist, stellt sie doch die wesentliche Barriere gegenüber Wasserverlust nach außen oder Eindringen von Fremdstoffen unterschiedlichster Art nach innen dar. Diese lebensnotwendige Funktion wird besonders bei Verlust der Barriere, z.B. bei großflächigen Verbrennungen oder bei der unreifen Haut Frühgeborener, deutlich. Diese Störungen gehen mit einem sehr hohen Flüssigkeitsverlust über die Haut einher (Elias et al. 2003). Das SC unterscheidet sich in seinem morphologischen Aufbau sowie seiner biochemischen Zusammensetzung deutlich von den darunterliegenden Schichten der Epidermis, der Dermis oder anderer Gewebe. Es enthält etwa 15% Wasser (gegenüber 70% in der Epidermis), 70% Proteine und 15% Lipide (Marks 2004).

Auf struktureller Ebene besteht das SC aus zwei Komponenten: den Korneozyten, die das Endprodukt der Differenzierung von Keratinozyten darstellen, sowie aus einer interzellulären Lipidmatrix. Die Keratinozyten stammen aus dem Stratum basale, wo sie kontinuierlich aus epidermalen Stammzellen produziert werden. Innerhalb von zwei bis drei Wochen wandern sie zum SC und durchlaufen dabei eine fundamentale morphologische und biochemische Wandlung. An der Grenze vom Stratum granulosum zum SC geben sie ihren Zellkern sowie alle relevanten Zellorganellen ab und werden dann als Korneozyten bezeichnet. Während dieser Wanderung ändert sich auch ihr Äußeres von kubischen Zellen des Stratum basale hin zu flachen, polygonalen, sich überlappenden Korneozyten. Das Innere der Korneozyten besteht im wesentlichen aus einer Matrix aus stark vernetzten Keratinfilamenten. Die Ausbildung der Querverbindungen zwischen den Keratinfilamenten wird durch Filaggrin unterstützt (Houben et al. 2007). Filaggrin ist ebenfalls die Vorstufe eines Teils des sogenannten Natural Moisturizing Factor. Dieser stellt eine Gruppe von Aminosäuren und deren Derivaten sowie Laktat, Harnstoff, Ziträt und Zuckern dar, welche sehr effektiv Wasser innerhalb des SC speichern und so zu dessen Flexibilität beitragen (Rawlings und Harding 2004). Zum dritten spielt Filaggrin (über die Verstoffwechselung zu Histidin und weiter zu Urokaninsäure) eine wichtige Rolle bei der Steuerung des pH-Wertes im SC. Als äußere Begrenzung der Korneozyten dient eine spezielle Membran, das sogenannte cornified envelope. Dieses nahezu undurchlässige cornified envelope besteht aus einer zellzugewandten einlagigen Proteinschicht sowie einer zum Interzellularraum hin weisenden einlagigen Lipidschicht. Die Proteinschicht besteht aus verschiedenen untereinander und mit

den Keratinfilamenten des Zellinneren verbundenen Strukturproteinen, von denen die bedeutendsten Involukrin und Lorikrin sind. Die Lipidschicht besteht im wesentlichen aus langkettigen Ceramiden und stellt die Verbindung zwischen dem hydrophilen Zellinneren und dem hydrophoben Interzellularraum dar. Untereinander sind die Korneozyten durch spezielle Desmosomen (Korneodesmosomen) fest verknüpft, die die Grundlage für die Integrität des SC darstellen (Harding 2004).

Die Zusammensetzung und der Aufbau der extrazellulären Lipidmatrix des SC weicht von der anderer Lipidmembranen, sowohl in der darunterliegenden Epidermis als auch im übrigen Körper, ab (Feingold 2007, Marks 2004). Die Lipidschicht besteht zu etwa 50% aus Ceramiden, zu 10 bis 20% aus freien Fettsäuren und zu 25% aus Cholesterol (Wertz 2006). Phospholipide, die Bestandteil der allermeisten sonst im Körper vorkommenden Zellmembranen sind, fehlen fast völlig. Die Vorstufen der Lipide des SC (Phospholipide, Glukosylceramide, Sphingomyelin, Cholesterol) entstammen speziellen Organellen der Keratinozyten, den sogenannten Keratosomen (lamellar bodies, Odland bodies). Diese entstehen im Laufe der Entwicklung der Keratinozyten und lassen sich erstmals im oberen Stratum spinosum nachweisen. Im Zuge der weiteren Reifung der Keratinozyten wandern sie in die Peripherie der Zelle, verschmelzen mit der Zellmembran der Keratinozyten und geben am Übergang vom Stratum granulosum zum SC per Exozytose ihren Inhalt in den Interzellularraum ab. Dort werden sie durch gleichfalls aus den Keratosomen freigesetzten Enzymen (verschiedene Lipidhydrolasen, Proteasen und Kathepsine) zu den Endprodukten der extrazellulären Matrix des SC verstoffwechselt (Feingold 2007). Sie organisieren sich dort in Lamellen, wobei möglicherweise die einlagige Lipidmembran des cornified envelope als Vorlage dient (Bouwstra und Ponc 2006). Die extrazellulären Lipide des SC stellen das für die SC-Barriere gegenüber Wasser wesentliche Element dar (Harding 2004, Marks 2004, Elias et al. 2003).

An der Oberfläche des SC findet eine kontinuierliche Abschilferung von Korneozyten statt. Dieser Vorgang, der als Desquamation bezeichnet wird, und seine Regulation sind in ihren Einzelheiten noch nicht verstanden. Man geht aber heute davon aus, daß es sich um einen aktiven Prozeß handelt und nicht nur um ein bloßes Abtragen von SC-Material durch von außen wirkende physikalische und chemische Kräfte. Eine zentrale Rolle im Rahmen der Desquamation nimmt der Abbau der interzellulären Haftverbindungen, der Korneodesmosomen, ein. Dieser erfolgt durch eine Reihe

hydrolytischer Enzyme (Proteasen), die in den oberen Schichten des SC aktiviert werden. Als Aktivatoren dieser Proteasen werden Veränderungen im Hydratationsgrad, im pH sowie in der Zusammensetzung der interzellulären Lipide diskutiert. (Milstone 2004, Harding 2004, Egelrud 2000).

2.3 Der Klebestreifenabrißtest

Unter dem Klebestreifenabrißtest, tape stripping, wird das Abtragen des SC durch sequentielles Aufbringen und Abziehen von Klebestreifen verstanden. An der adhäsiven Seite der Klebemedien bleibt die jeweils oberste Schicht des SC haften, wird durch das Abziehen entfernt und kann dann weiter analysiert werden. Die Methode wurde erstmals 1939 von Wolf beschrieben, der damit histologische Untersuchungen zur Struktur des SC durchführte (Wolf 1939). Nachdem Pinkus in den 1950er Jahren mehrere Arbeiten zum Klebestreifenabriß veröffentlichte, fand die Methode rasch Verbreitung (Pinkus 1951, Pinkus 1952, Hunter et al. 1956). Während der Klebestreifenabrißtest zunächst hauptsächlich zu morphologischen Untersuchungen zum Aufbau des SC eingesetzt wurde, traten in der Folge weitere Anwendungsgebiete hinzu. Der Klebestreifenabrißtest spielt heute eine wichtige Rolle bei Untersuchungen zur Barrierefunktion und -regeneration des SC (Fluhr et al. 1999a, Tanaka et al. 1997, van der Walk und Maibach 1990). Ebenso findet er breite Anwendung bei Studien zur Penetration von Fremdstoffen und Medikamenten (Rieger et al. 2007, Lademann et al. 2006, Hostynek et al. 2006, Shah et al. 1998, Rougier et al. 1986). Durch spezialisierte Klebemedien (z.B. Sebutape®) können Lipide und Zytokine im gewonnenen SC-Material bestimmt werden (Perkins et al. 2001, Pagnoni et al. 1994).

Obwohl dieses Verfahren offensichtlich weit verbreitet ist, ist es doch erstaunlich wenig standardisiert und wird mit unterschiedlichen Protokollen angewandt. Da eine Reihe von Einflußfaktoren auf den Klebestreifenabriß bekannt sind, wird die Vergleichbarkeit von Untersuchungsergebnissen erschwert (Lademann et al. 2009). Angaben zum Anpreßdruck, das heißt dem Druck, mit dem die Klebeträger auf die Haut gepreßt werden, zur Anpreßzeit und zur Anpreßmethode differieren oder werden meist nicht speziell ausgewiesen (Surber et al. 2001, Schwindt et al. 1998, Pirot et al. 1997). Da Anpreßdruck und -zeit die Adhäsion zwischen Klebemedium

und Unterlage beeinflussen (Tordjemann et al. 2001, Webster et al. 1997), ist verständlich, daß durch Änderungen dieser Parameter unterschiedliche Auswirkungen des Klebestreifenabrisses resultieren. Weiterhin ist bekannt, daß die Dicke des SC, aber auch die Größe der Korneozyten und verschiedene hautphysiologische Parameter sich an verschiedenen Körperregionen unterscheiden (Sandby-Møller et al. 2003, Fluhr et al. 2002, Pinnagoda et al. 1990, Holbrook und Odland 1974, Plewig 1970), so daß Klebestreifenabrisse an unterschiedlichen Körperregionen zu unterschiedlichen Ergebnissen führen werden. Van der Molen et al. (1997) konnten zeigen, daß, bedingt durch die Felderung der Haut, an einer Klebescheibe Stratum-corneum-Anteile aus unterschiedlichen Tiefen haften, was insbesondere bei Studien zur Penetration von Medikamenten erhebliche Fehler bedingen kann. Auch die Art der verwendeten Klebemedien differiert in der Literatur stark. Früher verwendete, mit einem Adhäsivum beschichtete Objektträger sind weitgehend durch konventionelle Haushaltsklebestreifen (Tesa®, Cellotape® u.ä.) und neuerdings erhältliche, speziell für dermatologische Untersuchungen entwickelte Klebescheiben (z.B. D-Squame®, Corneofix®, Transpore®, Micropore®) verdrängt worden (Miller 2006, Bashir et al. 2001). Diese Klebemedien unterscheiden sich jedoch in ihren physikochemischen Eigenschaften. Die Auswahl des Klebmaterials kann deshalb die Ergebnisse von Klebestreifenabrißuntersuchungen beeinflussen.

2.4 Nichtinvasive biophysikalische Messungen

2.4.1 Messung des transepidermalen Wasserverlusts (TEWL)

Wie oben dargelegt, gehört der Schutz vor ungewolltem Wasserverlust zu den wesentlichen Aufgaben der Haut. Das SC stellt jedoch keine komplett undurchlässige Barriere gegenüber Wasser dar. Pro Tag werden durch passive Diffusion 500 bis 800 ml Wasser abgegeben. Zusätzlich geben Schweißdrüsen auch unterhalb der Temperaturschwelle (etwa 30°C beim unbedeckten ruhenden Menschen, sogenannte obere kritische Temperatur), ab der das thermoregulatorische Schwitzen einsetzt, Wasser ab. Diesen kombinierten Wasserverlust bezeichnet man als Perspiratio insensibilis. Zur Regulation der Körpertemperatur steht zusätzlich das sogenannte thermoregulatorische Schwitzen zur Verfügung. Dieses beinhaltet die

Abgabe von Schweiß über ekkrine Drüsen, welcher dann über Verdunstung zur Kühlung der Hautoberfläche führt. Der TEWL wird definiert als der durch passive Wasserdiffusion bedingte Anteil der Perspiratio insensibilis ohne den Anteil der Schweißdrüsen (Pinson 1942). In der praktischen Anwendung wird der Begriff des TEWL in der Regel dem gesamten unwillkürlichen bzw. unbemerkten Wasserverlustes einschließlich des passiven Anteils der Schweißdrüsen gleichgesetzt (Batt und Fairhurst 1986). Physikalisch gesehen entspricht der TEWL dem Wasserflux über das SC und gehorcht dem 1. Fickschen Diffusionsgesetz:

$$J = TEWL = -D \frac{\partial c}{\partial x}$$

(J – Wasserflux, D – Diffusionskonstante für Wasser, $\partial c / \partial x$ - Konzentrationsgradient für Wasser).

Generell wird angenommen, daß der TEWL als Diffusionsmaß für Wasser die Barrierefunktion des SC und Änderungen dieser Barriere widerspiegelt (Fluhr et al 2006, van der Walk et al. 2005, Rogiers 2005). Seit mehreren Jahrzehnten wird er in hautphysiologischen Untersuchungen als biophysikalisches Maß für die Barrierefunktion des SC eingesetzt.

Die Messung des TEWL kann mit Systemen mit geschlossenen oder offenen (wie dem in dieser Arbeit verwendeten Tewameter®) Meßkammern erfolgen. Das Tewameter® enthält eine zylinderförmige Sonde mit je zwei in unterschiedlicher Höhe innerhalb des Zylinders angebrachten Temperatur- und Feuchtigkeitssensoren. Diese messen unabhängig voneinander die lokale Temperatur und Feuchtigkeit und berechnen daraus den entsprechenden Wasserdampfdruck. Aus dem ermittelten Dampfdruckgradienten zwischen den zwei Meßstellen kann schließlich der TEWL bestimmt werden (Bedienungsanleitung Tewameter® TM 300, Courage + Khazaka GmbH, Köln).

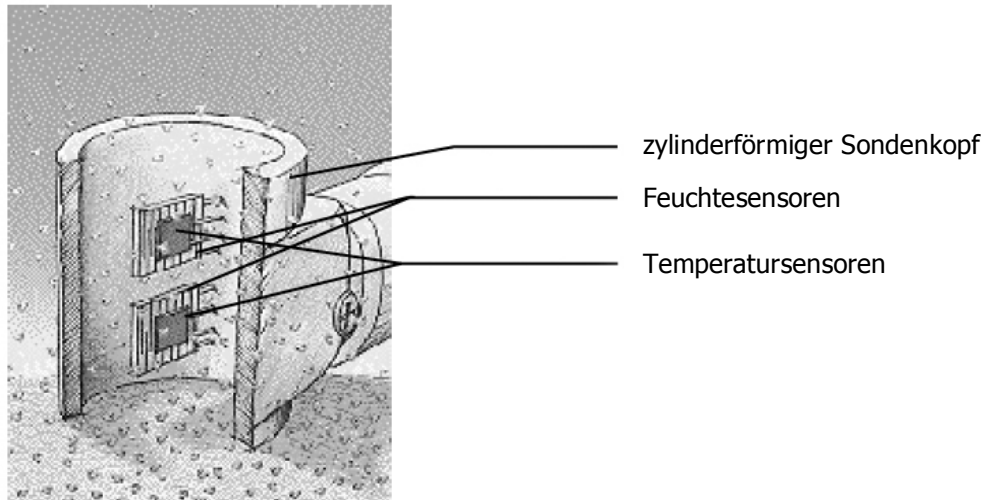


Abbildung 2.1: Aufbau der Meßsonde des Tewameters® (aus Bedienungsanleitung Tewameter® TM 300, Courage + Khazaka GmbH, Köln)

Eine Reihe von individuellen, Umgebungs- und Instrumentenvariablen können die TEWL-Messung relevant beeinflussen, so daß die Messungen unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden müssen (siehe auch 3 Material und Methoden). An individuellen Faktoren ist besonders das Auftreten von Schwitzen zu beachten. Da definitionsgemäß diese Form von Wasserabgabe nicht in den TEWL einfließt, sollte das Schwitzen unbedingt vermieden werden. Eine entsprechende Akklimatisationszeit sowie eine Kontrolle der Temperatur bzw. Klimatisierung im Untersuchungsraum ist unumgänglich. Die TEWL-Werte werden auch durch unterschiedliche Untersuchungsregionen beeinflusst, dabei werden TEWL-Werte in absteigender Höhe in den folgenden Regionen beobachtet: Handfläche > Fußsohle > Stirn = Haut hinter dem Ohr = Nägel = Handrücken > Unterarm = Oberarm = Oberschenkel = Brust = Bauch = Rücken (Pinnagoda et al. 1990). Weiterhin bedingen ethnische Unterschiede und zirkadiane Rhythmen (beziehungsweise der Untersuchungszeitpunkt) wahrscheinlich unterschiedliche TEWL-Werte (Wesley und Maibach 2003, Black et al. 2000, Denda und Tsuchiya 2000, Yosipovitch et al. 1998, Wilson D et al. 1988). Geschlechtsabhängige TEWL-Differenzen werden kontrovers diskutiert (Jacobi et al. 2005, Goh und Chia 1998). TEWL-Veränderungen bei Frauen sind möglicherweise durch schwankende Sexualhormonspiegel während des Menstruationszyklus bedingt (Reet et al. 1995, Agner et al. 1991). Die Temperatur an der Hautoberfläche bzw. deren Differenz zur Temperatur der Meßsonde ist ebenso von Bedeutung. Das

Tewameter® 300 löst dieses Problem durch eine beheizbare Sonde, deren Temperatur vor den Messungen angepaßt werden kann. Schließlich existieren zum Teil erhebliche interindividuelle Unterschiede in den TEWL-Werten, wobei diese in bestimmten Körperregionen (Stirn, Handfläche, Haut über dem Handgelenk) besonders ausgeprägt sind. An Umgebungsfaktoren spielen die schon erwähnte Raumtemperatur, die Luftfeuchte sowie die Luftzirkulation eine wichtige Rolle und müssen kontrolliert werden. An Instrumentenvariablen sind Äquilibrationszeiten zwischen den Messungen sowie das richtige Aufsetzen der Sonde senkrecht zur Hautoberfläche zu beachten (Rogiers 2001, Pinnagoda et al. 1990).

2.4.2 Messung der Hornhautfeuchte (Corneometrie)

Als Corneometrie bezeichnet man die Messung der Hornhautfeuchte. Diese hat einen großen Einfluß auf die Barrierefunktion des SC. Es existieren verschiedene Meßmethoden, deren Grundprinzipien Änderungen der Kapazität, des elektrischen Widerstands der Haut (Impedanz) bzw. Änderungen der Leitfähigkeit sind. Das in dieser Arbeit verwendete Corneometer® macht sich die vom Wassergehalt des SC abhängigen Änderungen der Kapazität zu Nutze. Beim Meßvorgang wird an einen im Sensor des Gerätes befindlichen Kondensator ein elektrischer Strom angelegt und eine elektrische Ladung erzeugt. Diese Ladung bleibt auch nach Abschalten des Stroms im Kondensator gespeichert. Sie wird durch das zwischen den Kondensatorplatten befindliche Material, welches als Dielektrikum bezeichnet wird, beeinflußt. Während die meisten Stoffe die Kapazität des Kondensators nur gering erhöhen, wird durch Wasser eine Kapazitätserhöhung um etwa den Faktor 80 bewirkt. Die Kapazitätsänderung ist proportional zum Grad der Hornhautfeuchte (Hydratation), so daß in Abhängigkeit vom Wassergehalt eine relative Hornhautfeuchte bestimmt werden kann (Fluhr et al. 1999b, Berardesca 1997, Distanto und Berardesca 1997, Courage 1994).

2.4.3 Messung des epidermalen pH-Wertes (pH-Metrie)

Der pH-Wert ist ein Maß für den sauren oder basischen Charakter einer Lösung. Er ist definiert als der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffionen- bzw. Hydroniumionenkonzentration in der Lösung. Der auf der Hautoberfläche gemessene normale pH-Wert liegt bei 4,8 bis 5,5. Er ist das Produkt wasserlöslicher Substanzen

aus dem SC, dem sezernierten Schweiß und Talg sowie der CO₂-Diffusion (Parra und Paye 2003). Entlang des SC bildet sich ein pH-Gradient aus; im unteren SC beträgt der pH-Wert schon 6,8, in den tiefer liegenden Schichten herrscht der auch im übrigen Körper bestehende leicht alkalische pH-Wert von 7,35 bis 7,46. Dieser pH-Gradient scheint verschiedene Funktionen zu erfüllen. Schon lange wird der sogenannte Säureschutzmantel auf der Haut als wirksames Hemmnis gegen die Besiedelung und das Eindringen von bakteriellen und Pilzerregern diskutiert (Schmid-Wendtner und Korting 2006, Matousek und Campbell 2002). In jüngerer Zeit wurde deutlich, daß der pH und insbesondere dessen Abfall entlang des SC eine wichtige Rolle bei der Regulation von Enzymen spielt, die Verhornung und Desquamation steuern. An der Aufrechterhaltung des pH-Gradienten sind verschiedene biochemische Kreisläufe und Membranproteine beteiligt: der Abbau von Histidin zu Urocaninsäure, die Umwandlung von Phospholipiden in freie Fettsäuren sowie verschiedene Transportproteine in der Zellmembran der Keratinozyten (zusammengefaßt in Fluhr et al. 2005). Verschiedene endogene (Alter, Geschlecht, ethnische Herkunft, Körperregion) sowie exogene (Detergentien, Reinigungsprodukte) Faktoren beeinflussen den pH-Wert des SC. Bei einer Reihe von Erkrankungen (z.B. atopische Dermatitis, Ichthyosis) ist der pH-Wert verändert. Zur Messung des pH-Wertes an der Hautoberfläche werden potentiometrische Verfahren eingesetzt. Dabei werden Glassensoren verwendet, die zwei Elektroden (aktive und Referenzelektrode) oder eine kombinierte Elektrode enthalten. Diese messen Potentialdifferenzen, die über ein Potentiometer ausgegeben werden (Parra und Paye 2003, Ehlers und Ivens 2001, Welzel 1995).

2.4.4 Messung der Hautfarbe (Chromametrie)

Die Hautfarbe wird vor allem durch von der Hautoberfläche abhängige physikalische Phänomene (Reflexion, Streuung) sowie die in der Epidermis und Dermis befindlichen Chromophore bestimmt. Von diesen sind Melanine (Eumelanin, Phäomelanin) und Hämoglobine (Oxyhämoglobin, Desoxyhämoglobin) die bedeutendsten. Die Hautfarbe ist weiterhin von einer Reihe individueller (Alter, Geschlecht, ethnischer Herkunft, Körperregion) und Umgebungsfaktoren (Temperatur, Jahreszeit) abhängig (Piérard 1998, Fullerton et al. 1996). Zur Objektivierung und Quantifizierung der Hautfarbe verwendete Meßverfahren bezeichnet man als Chromametrie oder

Kolorimetrie. In der Praxis kommen vor allem zwei Methoden zur Anwendung: zum einen die Spektralphotometrie, bei der Licht eines breiten oder nur begrenzten Wellenbereiches emittiert und aus dem reflektierten Spektrum die Farbe berechnet wird, zum anderen die auch in dieser Arbeit verwendete Chromametrie mittels Tristimulusanalyse. Hier wird ein weißes Licht emittiert und das senkrecht zur Oberfläche reflektierte Licht wird nach Farbspektren gefiltert und dann mit 3 Photodioden gemessen (Elsner 1995). Die erhaltenen Meßwerte können nach verschiedenen Farbkodiersystemen ausgegeben werden. Weite Verbreitung hat dabei das CIELAB-System der Internationalen Beleuchtungskommission (Commission Internationale de l'Eclairage, CIE) gefunden, welches die drei grundlegenden Eigenschaften einer Farbe (Farbton, Helligkeit und Sättigung) in einem dreidimensionalen Koordinatensystem darstellt. Eine Achse gibt dabei die Helligkeit wieder (L^* -Achse, Werte von 0 [schwarz] bis 100 [weiß]), eine weitere (a^* -Achse) gibt Grün-(-100)-Rot-(+100)-Werte wieder und auf der dritten Achse (b^* -Achse) werden Blau-(-100)-Gelb-(+100)-Werte dargestellt. Aus der a^* - und b^* -Achse kann schließlich mit der Formel $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ die Sättigung (Chroma, C^*) berechnet werden (Piérard 1998, Fullerton et al. 1996). Zur Darstellung irritativer Effekte wird der a^* -Wert (Rot-Werte) herangezogen, der gut mit der visuellen Auswertung korreliert (Hanau et al. 2003, Serup und Agner 1990).

2.5 Zielsetzung

Der Klebestreifenabriß ist ein weitverbreitetes Testverfahren in hautphysiologischen Untersuchungen. Die wichtigsten Einsatzgebiete sind Studien zur Funktion und Regeneration der SC-Barriere sowie Untersuchungen zur Penetration von Medikamenten und Fremdstoffen durch das SC. Der Test ist wenig standardisiert und unterliegt einer Reihe von Einflußfaktoren. Diese, im folgenden aufgelistet, sollen in der vorliegenden Arbeit auf ihre Auswirkungen auf die Ergebnisse des Klebestreifenabrißtests untersucht werden.

Im einzelnen sollen verschiedene Anpreßdrücke und -zeiten getestet werden, des weiteren verschiedene Methoden, mit denen die Klebemedien auf die Haut angedrückt werden. Unterschiedliche Klebematerialien werden auf ihre Eignung für das Verfahren des Klebestreifenabrisses analysiert werden. Da die Stratum-corneum-

Barriere regional morphologische und möglicherweise auch funktionelle Unterschiede aufweist, soll das Testverfahren an verschiedenen Körperregionen erfolgen. Weiterhin soll der Effekt einer 24stündigen Okklusionsbehandlung auf die Ergebnisse des Klebestreifenabrisses erfaßt werden. Okklusion bezeichnet in der Dermatologie die Bedeckung der Hautoberfläche, die zu einer Beeinträchtigung des TEWL führt (Zhai und Maibach 2002, Bucks et al. 1988). Sie führt zu einer interzellulären und intrazellulären Retention von Wasser im SC (Treffel und Gabard 2000).

Eine Barrierschädigung durch Okklusion ist nachgewiesen (Kligman 1994) und ist bereits nach 24stündiger Okklusion ausgeprägt (Fluhr et al. 1999a). Prolongierte oder wiederholte Okklusion wird als pathogenetisch bedeutsam in der Entstehung des Kontaktekzems angenommen. Diese Barrierschädigung bedingt aber auch eine verbesserte Resorption von lokal angewandten Medikamenten, was in der dermatologischen Therapie genutzt wird (Praessler und Fluhr 2005).

Zur Beurteilung der Auswirkungen der genannten Faktoren sollen verschiedene Untersuchungsverfahren herangezogen werden. Einen wesentlichen Stellenwert wird dabei die Bestimmung des transepidermalen Wasserverlustes haben, der als Maß für die Barrierefunktion (Integrität des SC) angesehen wird. Weitere nichtinvasive biophysikalische Meßmethoden (Corneometrie, Chromametrie und Bestimmung des Hautoberflächen-pH-Wertes) sollen Beeinflussungen der entsprechenden Parameter durch die verschiedenen zu untersuchenden Faktoren aufzeigen. Der Einfluß auf die durch die Klebemedien entfernte Masse an SC-Material (Kohäsion des SC) soll mit zwei verschiedenen Ansätzen untersucht werden: zum einen wird die Masse entfernten SC-Proteins mit einem kolorimetrischen Protein-Assay erfaßt werden, zum anderen wird ein kürzlich eingeführtes spektroskopisches Verfahren zum Einsatz kommen.

Folgende Hypothesen sollen in der Arbeit überprüft werden:

- Höhere Anpreßdrücke und längere Anpreßzeiten verursachen eine größere Barrierschädigung.
- Mit Anpreßmethoden, die die Furchung der Haut ausgleichen, wird sowohl eine gleichmäßigere als auch eine stärkere Abtragung der SC-Schichten und somit eine größere Barrierschädigung erreicht.

- Speziell für den Klebestreifenabriß entwickelte Klebemedien führen zu einer stärkeren Barrierschädigung.
- Durch die unterschiedliche Dicke und Morphologie des SC an verschiedenen Körperpartien resultiert eine unterschiedlich starke Barrierschädigung.
- Eine okklusive Vorbehandlung führt zu einer stärkeren Barrierschädigung.
- Die spektroskopische Methode erlaubt eine schnellere und ebenso genaue Bestimmung der durch den Abriß entfernten SC-Masse wie die kolorimetrische Methode.

Unter Berücksichtigung der genannten Ergebnisse wird ein standardisierter Ablauf des Klebestreifenabrißtest entworfen werden, der zu einer besseren Vergleichbarkeit von Klebestreifenabrißuntersuchungen führen soll.

3 Material und Methoden

3.1 Versuchsgruppe

Die vorliegende Untersuchung wurde an zwölf freiwilligen Probanden (sechs weiblich, sechs männlich) durchgeführt. Das Alter der Probanden lag zwischen 20 und 31 Jahren, das mediane Alter betrug 24,8 Jahre. Probanden, die an Hauterkrankungen leiden oder litten, Probanden mit schweren internistischen oder Autoimmunerkrankungen, Probanden mit einer bekannten Pflasterallergie sowie Probanden, die in den vergangenen vier Wochen vor der Untersuchung eine dermatologische Lokaltherapie erhalten hatten, wurden von der Studie ausgeschlossen. Die Probanden wurden vor Beginn der Untersuchung schriftlich und mündlich über den Ablauf und etwaige Nebenwirkungen des Klebestreifenabrisses aufgeklärt und erklärten sich schriftlich mit ihrer Teilnahme einverstanden.

Die Untersuchung war zuvor von der Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena unter der Registriernummer 1182-08/03 genehmigt worden.

Probandennummer	Alter	Geschlecht
1	26	Weiblich
2	20	Männlich
3	24	Männlich
4	24	Männlich
5	20	Weiblich
6	25	Männlich
7	31	Weiblich
8	20	Weiblich
9	25	Weiblich
10	29	Männlich
11	24	Weiblich
12	20	Männlich

Tabelle 3.1: Probandendaten

3.2 Methoden

3.2.1 Versuchsbedingungen

Die Untersuchungen an den Probanden wurden von November 2003 bis Februar 2004 an jeweils vier aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Am ersten Untersuchungstag wurden die Testfelder am volaren Unterarm mit einem Hautstift markiert und eventuell vorhandene Haare wurden durch vorsichtige Rasur entfernt. Auf ein Testfeld wurde eine runde Okklusionskammer (Finn Chamber®, 18 mm Durchmesser, Epitest Ltd. Oy, Tuusula, Finnland) aufgebracht und mit einem transparenten Pflaster (Tegaderm® 1626W, 3M Deutschland GmbH, Neuss) fixiert. Die Okklusionskammer enthielt ein mit 250 µl destilliertem Wasser getränktes Filterpapier und wurde für 24 h auf dem Testfeld belassen. Am zweiten und dritten Tag erfolgte der Klebestreifenabriß an insgesamt 13 Feldern an beiden Unterarmen, am Oberarm, am Rücken und an der Wange. Nach 24 und 48 h (am dritten und vierten Untersuchungstag) wurden an drei Feldern (s.u.) Kontrollmessungen durchgeführt.

Die Probanden wurden gebeten, an den Tagen der Untersuchung im Bereich der Testfelder keine Seife zu benutzen, keine Kosmetika aufzubringen und keinen Kaffee zu trinken, da Einflüsse auf alle gemessenen Parameter möglich sind (Fullerton et al. 1996, Wilhelm 1998, Rogiers 2001, Parra und Paye 2003).

Alle Untersuchungen fanden in einem klimatisierten Raum im Hautphysiologischen Labor der Klinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena statt. Lufttemperatur und relative Luftfeuchte wurden kontinuierlich gemessen; die Lufttemperatur lag während der Untersuchungen bei $20\pm 1^\circ\text{C}$, die Luftfeuchte bei $40\pm 8\%$. Außer dem Untersucher und dem Probanden befanden sich keine weiteren Personen im Raum. Die Fenster waren für den Untersuchungszeitraum geschlossen, so daß die Luftzirkulation im Raum so niedrig wie möglich gehalten wurde; diese ist als wichtiger Einflußfaktor für die Messung des TEWL bekannt. Auch wurde direkte Sonneneinstrahlung auf den Untersuchungsplatz vermieden, da diese ebenfalls die Messung des TEWL beeinflussen kann (Rogiers 2001, Pinnagoda et al. 1990).

Vor der Untersuchung hielten sich die Probanden für 20 min in dem klimatisierten Raum auf, um sich an die Umgebungsbedingungen zu akklimatisieren.

3.2.2 Klebestreifenabriß

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Einflußfaktoren auf den Klebestreifenabriß untersucht:

- vier verschiedene anatomische Lokalisationen
- drei verschiedene Anpreßmethoden
- zwei verschiedene Anpreßdrücke
- zwei verschiedene Anpreßzeiten
- drei verschiedene Klebematerialien

sowie die Auswirkungen einer 24stündigen Okklusionsbehandlung (Tabelle 3.2).

Die Klebestreifenabrisse wurde an zehn Feldern, verteilt auf beide Unterarme, auf einem Feld am Oberarm, auf einem Feld im Gesicht über dem Jochbein sowie auf einem Feld am oberen Rücken über dem Schulterblatt auf, durchgeführt (Tabelle 3.2, Abbildung 3.1). Die Felder am Unterarm wurden bei jedem Probanden gemäß Tabelle 3.3 randomisiert, um eventuelle Unterschiede zwischen proximalem und mittlerem Unterarmdrittel auszugleichen.

Testfeld	Prozedur
<i>Unterschiedliche Anpreßdrücke und Anpreßzeiten</i>	
A	Unterarm, D-Squame®, 2 N-Stempel, 2 sec
B	Unterarm, D-Squame®, 2 N-Stempel, 10 sec
C	Unterarm, D-Squame®, 7 N-Stempel, 2 sec
<i>Unterschiedliche Anpreßmethoden</i>	
D	Unterarm, D-Squame®, Roller, 2 sec
E	Unterarm, D-Squame®, Glattziehen der Haut, 2 N-Stempel, 2 sec
F	Unterarm, D-Squame®, Daumen, 2 sec
<i>Unterschiedliche Klebematerialien</i>	
G	Unterarm, Corneofix®, 2 N-Stempel, 2 sec
H	Unterarm, Blenderm®, 2 N-Stempel, 2 sec
<i>Referenzfeld</i>	
I	Unterarm, Referenzfeld
<i>Okklusion</i>	
J	Unterarm, Okklusion für 24 h vor dem Klebestreifenabriß, D-Squame®, 2 N-Stempel, 2 sec
<i>Unterschiedliche anatomische Lokalisation</i>	
K	Oberarm, D-Squame®, 2 N-Stempel, 2 sec
L	Wange, D-Squame®, 2 N-Stempel, 2 sec
M	Rücken, D-Squame®, 2 N-Stempel, 2 sec

Tabelle 3.2: Auflistung der untersuchten Einflußfaktoren

Probanden- nummer	Testfelder										
	linker Arm					rechter Arm					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
2	I	A	B	C	D	E	F	G	H		J
3	H	I	A	B	C	D	E	F	G	J	
4	G	H	I	A	B	C	D	E	F		J
5	F	G	H	I	A	B	C	D	E	J	
6	E	F	G	H	I	A	B	C	D		J
7	D	E	F	G	H	I	A	B	C	J	
8	C	D	E	F	G	H	I	A	B		J
9	B	C	D	E	F	G	H	I	A	J	
10	A	B	C	D	E	F	G	H	I		J
11	I	A	B	C	D	E	F	G	H	J	
12	H	I	A	B	C	D	E	F	G		J

Tabelle 3.3: Randomisierungsplan für die Zuordnung der verschiedenen Applikationsformen der Klebemedien: Einem Testfeld (1-12, siehe auch Abbildung 3.1) wird jeweils eine bestimmte Prozedur (A-J, siehe auch Tabelle 3.2) zugeordnet.

Zum Andrücken der Klebematerialien wurden entweder einer von zwei Stempeln, ein Roller oder der Daumen des Untersuchers benutzt (Tabelle 2.1). Die Stempel besaßen eine Feder mit einer definierten Federkraft von 2 bzw. 7 N (einem Druck von 5,3 kPa bzw. 18,4 kPa entsprechend), der Roller trug im Griff ein Gewicht von 530 g. Auf einem Testfeld wurde der Klebestreifen mit dem Daumen mit einer kreisförmigen gefolgt von einer queren Bewegung angedrückt.

Zur Untersuchung des Einflusses der Hautfalterung wurde auf einem Feld (Feld 5) die Haut mit Daumen, Zeige- und Mittelfinger der linken Hand straff gespannt; die Klebescheibe wurde mit dem 2 N-Stempel für 2 sec angedrückt.

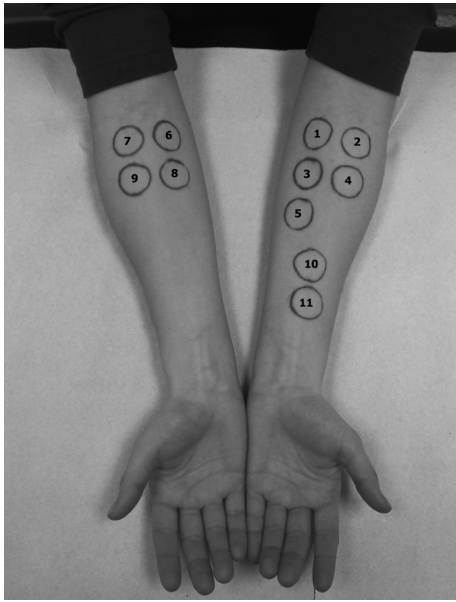


Abbildung 3.1: Darstellung der Testfelder am Unterarm. Die in Tabelle 3.2 aufgelisteten Prozeduren wurden gemäß Tabelle 3.3 randomisiert den Testfeldern zugewiesen.



Abbildung 3.2: Die zum Anpressen der Klebescheiben verwendeten Stempel mit unterschiedlicher Federkraft (1) sowie der Roller (2).

Weiterhin wurden drei verschiedene Klebestreifen untersucht: das D-Squame® (CuDerm Corp, Dallas, USA), eine runde, 2,2 cm im Durchmesser messende Klebescheibe mit einer Fläche von 3,8 cm², das Corneofix® (Courage + Khazaka GmbH, Köln), eine rechteckige, 2,0 x 1,9 cm messende Klebefolie mit einer Fläche von ebenfalls 3,8 cm² und nicht klebenden Lasche zur besseren Handhabung sowie Scotch 3M Blenderm Surgical Tape 1525-1 (3M Deutschland GmbH, Neuss), ein auf

einer Rolle geliefertes Klebepflaster, welches in rechteckige Stücken von ca. 3,8 x 2,5 cm geschnitten wurde. Alle drei Klebematerialien wurden mit dem 2 N-Stempel für 2 sec angedrückt.

Die Auswirkungen einer 24stündigen Okklusion wurden auf einem weiteren Feld untersucht (Feld 10). Dazu wurde am ersten Untersuchungstag in oben beschriebener Weise eine Okklusionskammer mit einem mit destilliertem Wasser getränkten Filterpapier aufgebracht und fixiert. Nach 24 h wurde diese Okklusionskammer wieder entfernt und nach einer Wartezeit von 30 min wurden die unten beschriebenen biophysikalischen Messungen und die Klebestreifenabrisse begonnen.

Die Klebescheiben wurden mit einer Pinzette auf die markierten Testfelder aufgebracht, dort mit einer der oben genannten Methoden angedrückt und dann wiederum mit einer Pinzette mit einer langsamen Bewegung von der Haut abgezogen. Der Abriß erfolgte abwechselnd von gegenüberliegenden Seiten der Klebescheiben, um ein gleichmäßiges Entfernen von Stratum-corneum-Schichten zu gewährleisten (Pinkus 1966). Die Klebescheiben wurden anschließend wieder auf die Trägerfolien aufgebracht und bei -20°C gelagert. In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, daß aus dieser Aufbewahrungstechnik kein Proteinverlust resultiert. Von jedem Testfeld wurden 42 Abrisse angefertigt, jedoch wurden die Klebestreifenabrisse früher beendet, wenn der TEWL $50 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ überschritt oder die Glanzschicht erreicht wurde.

Alle Klebestreifenabrisse wurden von derselben Person durchgeführt. Während des gesamten Klebestreifenabrisses wurden Vinylhandschuhe getragen, um eine Kontamination der Klebescheiben mit Fremdprotein zu vermeiden.

3.2.3 Nicht-invasive biophysikalische Messungen

Der TEWL wurde mit dem Tewameter® TM 300 (Courage + Khazaka GmbH, Köln) bestimmt. Für alle TEWL-Messungen im Rahmen der Untersuchung wurde dasselbe Gerät verwandt. Zu Beginn der Studie wurde das Gerät gemäß der Bedienungsanleitung kalibriert.

Die Messung des TEWL erfolgte jeweils vor Beginn der Klebestreifenabrisse (Basiswert) und dann nach 2, 7, 12, 22, 32 und 42 Abrissen. Auf dem Feld, welches 24 okkludiert wurde, wurde der TEWL vor Aufbringen der Okklusionskammern, vor Beginn der Klebestreifenabrisse und dann nach 2, 7, 12, 22, 32 und 42 Abrissen gemessen. Die ersten beiden Abrisse wurden jeweils getrennt gewertet, da diese erfahrungsgemäß nur lose haftende SC-Partikel, die sich im Stadium der Desquamation befinden, sowie eventuell vorhandene exogene Substanzen (Schmutzpartikel, Kosmetikareste) entfernen.

Zwischen letztem Abriß und Messung des TEWL wurde 90 sec gewartet, um eine Äquilibration der Wasserdiffusion aus dem SC zu ermöglichen (Bashir et al. 2001). Zur Messung wurde die Meßsonde senkrecht mit leichtem Druck auf das Testfeld aufgesetzt, so daß zwischen Haut und Sonde keine Lücke entstand. Nachdem die vom Gerät sekundlich gemessenen TEWL-Werte einen Plateau-Wert erreicht hatten (Dauer zwischen 30 und 120 sec), wurde dieser Meßwert übernommen. Es wurden jeweils zwei Werte gemessen, aus denen das arithmetische Mittel gebildet wurde. Lagen diese zwei Werte um mehr als 10% auseinander, wurde ein dritter Wert bestimmt. Die Werte wurden in $\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ angegeben.

Dieses Vorgehen steht im Einklang mit den aktuellen Leitlinien zur Messung des TEWL (Rogiers 2001, Pinnagoda et al. 1990).

Zur Messung der Hornhautfeuchte wurde das Gerät Corneometer® CM 820 der Firma Courage & Khazaka, Köln, verwendet. Vor Beginn der Klebestreifenabrisse und nach 42 Abrissen wurden jeweils drei Werte ermittelt und der arithmetische Mittelwert aus diesen gebildet. Dabei wurde der Meßkopf des Corneometers® CM 820 senkrecht mit gerade eben jenem Druck, der die Messung auslöste, aufgesetzt. Messungen wurden an drei dicht nebeneinander liegenden Stellen innerhalb des Testfeldes durchgeführt, da durch kurz aufeinanderfolgende Messungen (<5 sec) an genau der selben Stelle eine Feuchtigkeitsakkumulation an diesem Ort verursacht wird, was in einem falsch hohen Wert resultiert (Wilhelm 1998, Distanti und Berardesca 1995, Courage 1994). Die Werte werden als AU (arbitrary units, nichtspezifizierte Einheiten) ausgegeben. Die aktuellen Empfehlungen zur Messung der Hornhautfeuchte wurden beachtet (Berardesca 1997).

Die Bestimmung des pH-Wertes des SC erfolgte mit einer Glaselektrode (Mettler-Toledo GmbH, Giessen), die an ein pH-Meßgerät (Skin-pH-Meter® PH 900, Courage + Khazaka GmbH, Köln) angeschlossen wurde. Das Gerät wurde den aktuellen Empfehlungen (Parra und Paye 2003) folgend zu Beginn der Studie und dann wöchentlich mit zwei Pufferlösungen mit bekanntem pH von 4,0 und 6,9 kalibriert. Zwischen den Messungen wurde die Sonde in einem mit KCl (4 mol/l) gefüllten Gefäß aufbewahrt. Je drei Werte wurden vor Beginn der Klebestreifenabrissse und nach 42 Abrissen gemessen und aus diesen der arithmetische Mittelwert berechnet. Vor jeder Messung wurde die Sonde kurz in ein Gefäß mit destilliertem Wasser getaucht und dann abgeschüttelt, so daß der Meßbereich der Sonde mit Wasser benetzt war, sich aber kein Tropfen bildete (Parra und Paye 2003). Die Sonde wurde dann mit leichtem Druck aufgesetzt. Zwischen Aufsetzen der Meßsonde und Auslösen der Messung wurde 7 sec gewartet, um eine ausreichende Stabilisierung zu gewährleisten (Ehlers et al. 2001).

Die Hautfarbe wurde mit dem Minolta Chromameter® CR 200 (Minolta GmbH, Ahrensburg, Deutschland) gemessen. Vor den Klebestreifenabrissen und nach 42 Abrissen wurden jeweils drei Meßwerte (a^* -Wert) ermittelt, aus denen der arithmetische Mittelwert gebildet wurde. Zur Messung wurde der Meßkopf nur ganz leicht auf das Testfeld aufgesetzt, da zu hoher Druck eine Kompression der Haut bewirkt, was die L^* - und a^* -Werte signifikant beeinflusst (Pierard 1998). Die aktuellen Leitlinien zur Messung der Hautfarbe wurden berücksichtigt (Pierard 1998, Fullerton et al. 1996, Elsner 1995).

Auf den Feldern 1 (Unterarm, 2 N-Stempel, Anpreßzeit 2 sec), 3 (Unterarm, 7 N-Stempel, Anpreßzeit 2 sec) und 10 (Okklusion, 2 N-Stempel, Anpreßzeit 2 sec) wurden jeweils 24 h und 48 h nach den Klebestreifenabrissen Nachmessungen des TEWL, der Hornhautfeuchte, der Hautfarbe und des epidermalen pH-Wertes zur Darstellung der Barriereregeneration durchgeführt.

Die Messungen auf einem Testfeld wurden in folgender Reihenfolge durchgeführt: Zuerst wurde (nach der oben erwähnten Wartezeit von 90 sec) der TEWL bestimmt, anschließend wurde die Hautfarbe ermittelt, darauffolgend erfolgte die Hornhautfeuchtebestimmung und abschließend die pH-Bestimmung, um Einflüsse

durch den Druck der Meßsonden und durch das an der pH-Sonde befindliche Wasser auf die vorangehenden Messungen zu vermeiden.

Alle Messungen wurden vom selben Untersucher durchgeführt.

3.2.4 Spektroskopische Messungen

Zur Bestimmung der Masse der auf einer Klebescheibe befindlichen Stratum-corneum-Partikel bedienten wir uns der von Weigmann und Mitarbeitern eingeführten und in mehreren Studien evaluierten Methode (Weigmann et al. 1999, Weigmann et al. 2003, Lindemann et al. 2003), die auf der sogenannten Pseudoabsorbanz der Korneozyten beruht: Beim Lichtdurchfall durch eine Klebescheibe, auf der Korneozytenkonglomerate haften, kommt es durch Streuung, Reflektion und Diffraktion zu einer Schwächung des Lichtes. Diese Schwächung ist proportional zur Masse der auf der Klebescheibe haftenden Korneozyten.

Die Messungen wurden mit einem speziellen Diaskop durchgeführt, welches Licht mit einer Wellenlänge von 430 nm emittiert. Durch eine Schablone mit einer quadratischen, 10 x 10 mm großen Öffnung wurde das Licht auf die Klebescheiben gerichtet und dabei durch die erwähnten optischen Prozesse geschwächt. Diese Pseudoabsorbanz wurde gemessen. Eine leere Klebescheibe ohne Korneozytenkonglomerate diente als Referenz. Die Masse an Korneozyten wurde mit der Formel $m \text{ (Masse)} = A \text{ (Absorbanz)} / 0.0053$ berechnet (Bornkessel et al. 2005).

3.2.5 Kolorimetrische Proteinbestimmung

Zum quantitativen Nachweis der SC-Proteine auf den D-Squame[®]- und den Corneofix[®]-Klebefolien wurde ein Proteinassay durchgeführt. Die angewandte Methode wurde von Fluhr (Fluhr et al. 2001) beschrieben und stellt eine Modifikation der von Dreher (Dreher et al. 1998) vorgeschlagenen Methode dar, die auf der Bradford-Farbreaktion (Bradford 1976) beruht. Zur Anwendung kam dabei das BioRad Protein-Assay Kit (BioRad, Hercules, USA).

Mit dem dem Kit beiliegenden bovinen Serumalbumin wurde eine Standardkurve mit Proteinkonzentrationen von 1 bis 15 µg/ml erstellt; in diesem Bereich zeigte sich eine lineare Beziehung zwischen Proteinkonzentration und gemessener Absorbanz.

Die ersten zwei Klebescheiben und dann jeweils zehn Klebescheiben wurden zusammen analysiert. Dafür wurden die Klebescheiben in einer Petrischale mit 1 ml 1 M NaOH (Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe, Deutschland) pro Klebescheibe inkubiert und bei 37°C und 120 U/min in einem beheizbaren Schüttler (Thermostar, BMG Labtech GmbH, Offenburg, Deutschland) für eine Stunde geschüttelt, um die Proteine von den Klebematerialien zu lösen. Danach wurden die Klebescheiben mit 1 ml 1 M HCl (Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe, Deutschland) pro Scheibe neutralisiert. 800 µl dieser Lösung und 200 µl der Farbreagenz wurden in ein verschließbares Reagenzgefäß gegeben und für 10 sec auf einem Rüttler vermischt. Anschließend wurde die Lösung in transparente Halbmikro-Küvetten (Ratiolab Halbmikro-Küvetten, Ratiolab GmbH, Dreieich-Buchschlag, Deutschland) umgefüllt und nach 10 min wurde die Absorption bei 595 nm in einem Spektrometer (Jasco V-350, JASCO Labor- und Datentechnik GmbH, Groß-Umstadt, Deutschland) gemessen.

3.2.6 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism Version 3.02 für Windows (GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA).

Die Ergebnisse der TEWL-Messungen auf den verschiedenen Testfeldern wurden in Gruppen zusammengefaßt: unterschiedlicher Anpreßdruck und Anpreßzeit, unterschiedliche Anpreßmethode, unterschiedliche Klebematerialien und unterschiedliche Lokalisation. Die Ergebnisse wurden dann auf Normalverteilung überprüft. Falls diese vorlag, wurden ANOVA-Modelle über den zeitlichen Verlauf der Klebestreifenabrisse und innerhalb der Gruppen berechnet. Als post-Test wurde der Bonferroni-Test verwendet. Falls keine Normalverteilung vorlag (überprüft mit dem Kolmogorow-Smirnow-Test), erfolgte die Berechnung für den paarweisen Vergleich mit Hilfe des Friedman-Tests und des Dunn-Tests als post-Test.

Die statistische Überprüfung der spektroskopischen Messungen und der Ergebnisse des Proteinassays erfolgte analog, d.h. Überprüfung auf Normalverteilung, gefolgt von Berechnungen von ANOVA-Modellen über den zeitlichen Verlauf der Klebestreifenabrisse und innerhalb der Gruppen. Die Meßergebnisse der anderen biophysikalischen Messungen (Chromametrie, Corneometrie, pH-Metrie) lagen in

jeweils zwei Gruppen vor (vor und nach Klebestreifenabriß) und wurden nach vorheriger Prüfung auf Normalverteilung mit einem gepaarten t-Test ausgewertet. P-Werte $< 0,05$ wurden als signifikant angenommen.

4 Ergebnisse

Die Klebestreifenabrisse wurden von allen Probanden gut vertragen, es traten nur geringe und temporäre Hautreaktionen (Irritation) auf. Ein Proband mußte wegen Juckreizes das Okklusionspflaster vorzeitig entfernen. Die Meßergebnisse von diesem Probanden wurden nicht berücksichtigt. Wenn nicht anders angezeigt, werden die Meßergebnisse als Mittelwerte \pm Standardabweichungen angegeben. Für den Proteinassay werden kumulative Mengenangaben angezeigt.

4.1 Der Einfluß von Anpreßdruck und Anpreßdauer

Zur Untersuchung des Einflusses von verschiedenen Anpreßdrücken auf das Ausmaß der SC-Barriereschädigung wurden zwei Stempel mit einer Federkraft von 2 N bzw. 7 N benutzt, mit denen die Klebematerialien für 2 sec angedrückt wurden. Um den Einfluß einer unterschiedlichen Anpreßdauer zu bestimmen, wurde der 2 N-Stempel für 2 oder 10 sec angedrückt. Die Untersuchungen erfolgten jeweils mit den D-Squame®-Klebescheiben auf Feldern am Unterarm.

Höherer Anpreßdruck (7 N) oder längere Anpreßzeit (10 sec) führten zu einem höheren Anstieg des TEWL als niedriger Anpreßdruck (2 N) oder kürzere Anpreßzeit (2 sec) (vgl. Abbildung 4.1). Bereits nach 7 Abrissen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der kurzen und der langen Anpreßdauer. Nach 12 Abrissen kam es zu einem signifikant höheren TEWL-Anstieg auf dem Feld mit dem höheren Anpreßdruck als auf dem Feld, auf dem der niedrigere Anpreßdruck benutzt wurde. Dieser Unterschied war bei allen nachfolgenden Messungen (nach 22, 32, 42 Abrissen) sichtbar und vergrößerte sich noch. Die längere Anpreßzeit von 10 sec führte zu einem etwas höheren, jedoch nicht signifikanten TEWL-Anstieg als der höhere Anpreßdruck von 7 N.

Der Anstieg des TEWL verlief nicht linear. Nach einem zunächst allmählichen TEWL-Anstieg über die ersten 7-12 Abrisse, je nach Anpreßdruck und -zeit, folgte ein zunehmend steilerer Anstieg (vgl. Abbildung 4.1).

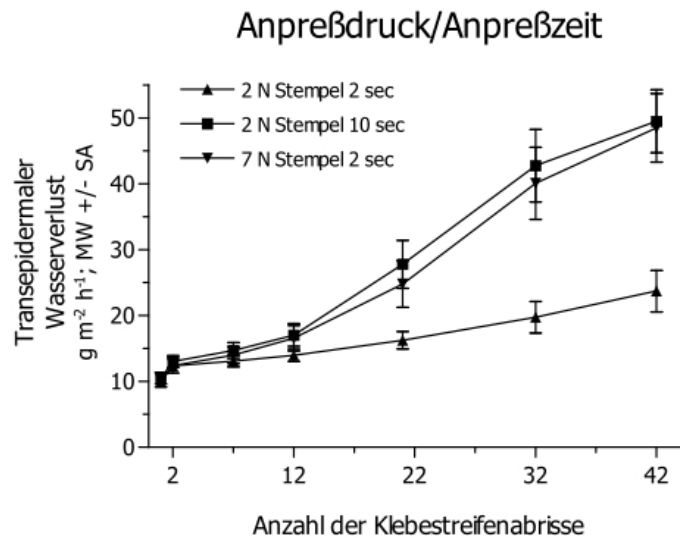


Abbildung 4.1: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke und -zeiten auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung

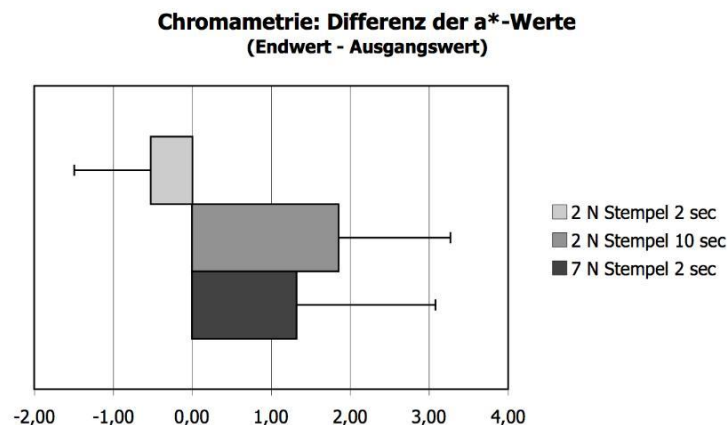
Anpreßdruck und Anpreßzeit beeinflussten ebenfalls die Menge der an den Klebematerialien haftenden SC-Proteine. Durch einen höheren Anpreßdruck wurde mehr Protein entfernt als durch niedrigere Anpreßdrücke (vgl. Abbildung 4.9). Ein signifikanter Unterschied zwischen niedrigem und hohem Anpreßdruck trat schon nach 2 Abrissen auf und setzte sich bei den nachfolgenden Messungen fort. Durch eine längere Anpreßzeit wurde ebenfalls mehr SC-Protein entfernt als durch eine kurze Anpreßzeit.

Auch bei der spektroskopischen Nachweismethode zeigten sich ähnliche Ergebnisse. Bei höherem Anpreßdruck oder längerer Anpreßzeit erfolgte eine höhere Lichtschwächung bei 430 nm als bei niedrigeren Anpreßdrücken oder kürzeren Anpreßzeiten (vgl. Abbildung 4.10). Nach 2 Abrissen ließ sich bereits ein signifikanter Unterschied zwischen niedrigem und hohem Anpreßdruck nachweisen und nach 7 Abrissen bestand ein signifikanter Unterschied zwischen kurzer und langer Anpreßdauer. Durch den höheren Anpreßdruck wurde eine stärkere Lichtschwächung erzeugt als durch die längere Anpreßdauer. Dieser Unterschied war nach 42 Abrissen nicht signifikant.

Die chromametrischen Messungen ergaben für den höheren Anpreßdruck und die längere Anpreßdauer nach 42 Abrissen im Vergleich zum Ausgangswert einen Anstieg des a^* -Wertes, was einer stärkeren Rötung entspricht (vgl. Abbildung 4.2). Dieser Anstieg des a^* -Wertes war für die längere Anpreßdauer (Δ Endwert-Ausgangswert $1,85 \pm 1,42$, nicht signifikant) höher als für den stärkeren Anpreßdruck (Δ $1,32 \pm 1,76$, nicht signifikant). Bei niedrigem Anpreßdruck und kurzer Anpreßdauer fiel der a^* -Wert im Vergleich zum Ausgangswert dagegen ab (Δ $-0,52 \pm 0,97$, nicht signifikant).

Durch höheren Anpreßdruck oder längere Anpreßzeit kam es im Vergleich zum Ausgangswert zu einer Erhöhung der Hornhautfeuchte (vgl. Abbildung 4.2). Ein höherer Druck (Δ Endwert-Ausgangswert $15,36 \text{ AU} \pm 12,34$, nicht signifikant) führte dabei zu einem höheren Wert als eine längere Dauer (Δ $12,83 \text{ AU} \pm 12,63$, nicht signifikant). Niedriger Anpreßdruck und kurze Anpreßdauer führten dagegen zu einer Erniedrigung der Hornhautfeuchte (Δ $-2,28 \text{ AU} \pm 7,88$, nicht signifikant).

Der pH-Wert stieg im Verlauf der Klebestreifenabrisse bei höherem Anpreßdruck (Δ Endwert-Ausgangswert $0,06 \pm 0,25$, nicht signifikant) und längerer Anpreßdauer (Δ $0,06 \pm 0,40$, nicht signifikant) an, bei niedrigem Anpreßdruck und kurzer Anpreßdauer sank er (Δ $-0,06 \pm 0,31$, nicht signifikant).



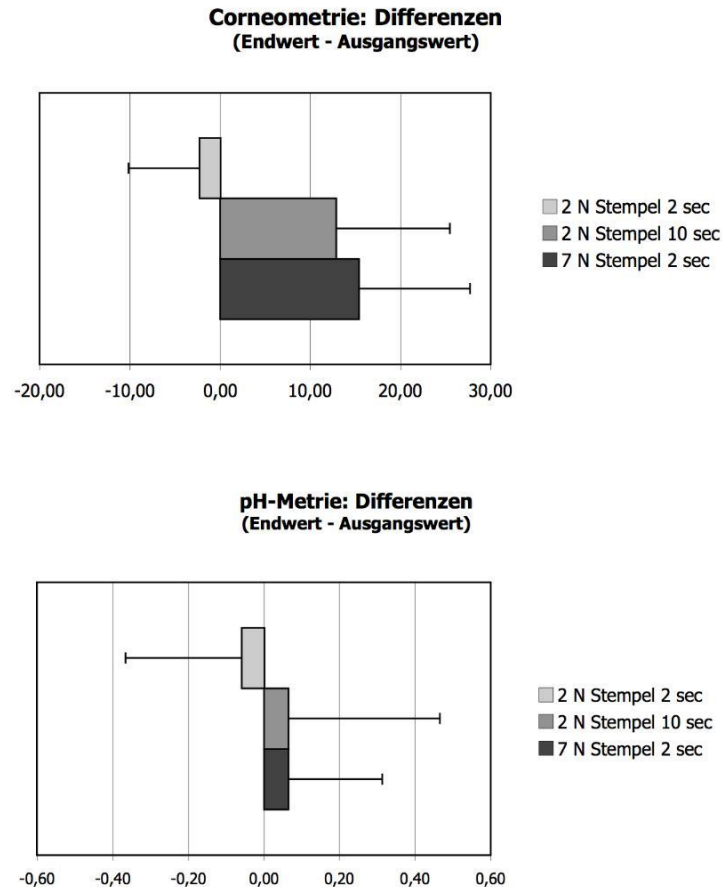


Abbildung 4.2: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke und -zeiten auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH

4.2 Der Einfluß verschiedener Anpreßmethoden

Es wurden vier verschiedene Methoden, mit denen die Klebematerialien auf der Haut angedrückt wurden, untersucht: ein Roller mit einem Gewicht von 530 g, ein Stempel mit einer Federkraft von 2 N, sowie das Andrücken mit dem Daumen. Auf einem weiteren Feld wurde die Haut wie beschrieben während des Anpressens mit dem 2 N-Stempel gespannt. Bei allen vier Methoden wurden die D-Squame®-Scheiben auf Feldern am Unterarm für 2 sec angedrückt.

Die höchsten TEWL-Anstiege wurden durch das Anpressen der Klebescheiben mit dem Daumen des Untersuchers erreicht, gefolgt vom Roller (vgl. Abbildung 4.3). Das Spannen der Haut verursachte höhere TEWL-Anstiege als das Andrücken mit dem 2 N-Stempel allein. Nach 22 Abrissen war der Unterschied gegenüber dem 2 N-Stempel allein. Nach 32 Abrissen auch gegenüber den anderen beiden Anpreßmethoden.

Die Unterschiede zwischen dem Anpressen mit dem Roller, dem Anpressen mit dem 2 N-Stempel ohne Straffen der Haut sowie dem Anpressen mit dem 2 N-Stempel bei gespannter Haut erreichten kein signifikantes Niveau.

Bei der Menge der durch die Klebescheiben entfernten SC-Proteine gab es zwischen den einzelnen Methoden keine signifikanten Unterschiede. Durch das Andrücken mit dem 2 N-Stempel ohne Straffen der Haut wurde am wenigsten Protein entfernt, durch das gleichzeitige Straffen der Haut haftete die größte Menge Protein an den Klebescheiben (vgl. Abbildung 4.9).

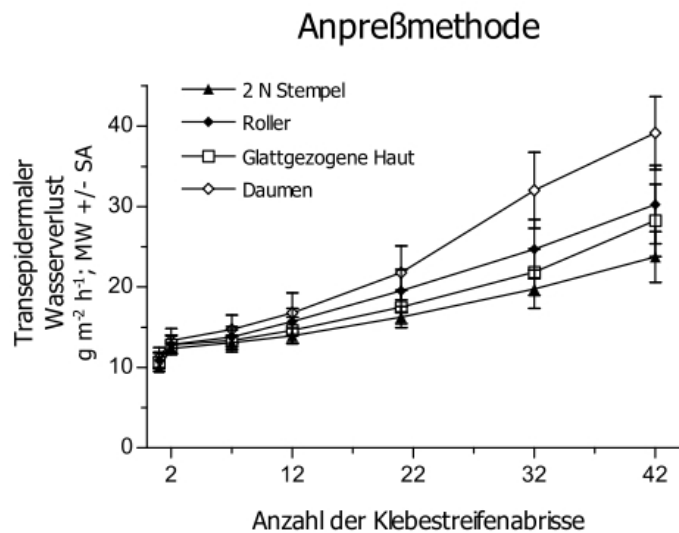


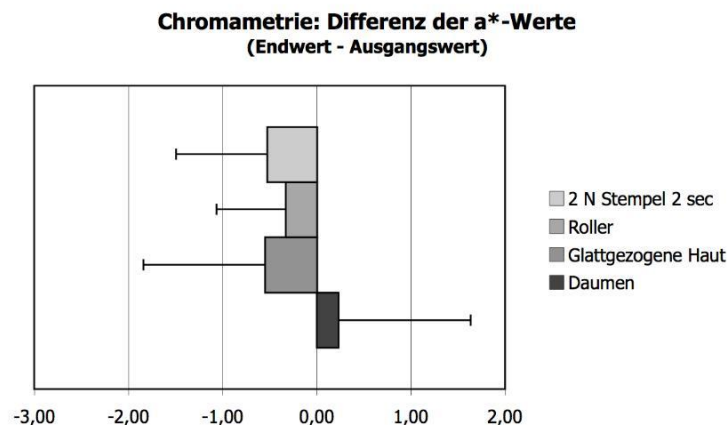
Abbildung 4.3: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßmethoden auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung

Die spektroskopischen Messungen ergaben eine deutlich stärkere Lichtschwächung, wenn die D-Squame®-Scheiben mit dem Daumen angedrückt wurden (vgl. Abbildung 4.10). Dieser Unterschied war schon nach 2 Abrissen deutlich und statistisch signifikant; er war über den gesamten Verlauf der Klebestreifenabrissse nachweisbar. Bei Benutzung des Rollers zeigte sich eine etwas stärkere Lichtschwächung als bei Verwendung des Stempels, und das Straffen der Haut führte zu einer etwas stärkeren Absorbanz als das Andrücken mit dem Stempel und ohne Straffen der Haut.

Alle Methoden außer dem Anpressen mit dem Daumen führten zu einer geringen, statistisch nicht signifikanten Erniedrigung des a^* -Wertes in der Chromametrie (Daumen: Δ Endwert-Ausgangswert $0,23 \pm 1,41$; Roller $\Delta -0,33 \pm 0,73$; 2 N-Stempel ohne Spannen der Haut $\Delta -0,52 \pm 0,97$; 2 N-Stempel mit Spannen der Haut $\Delta -0,55 \pm 1,29$).

Die Hornhautfeuchte erhöhte sich beim Anpressen der Klebescheiben mit dem Daumen, dem Roller oder dem 2 N-Stempel unter gleichzeitigem Straffen der Haut; beim Andrücken mit dem 2 N-Stempel allein verringerte sie sich dagegen (Δ Endwert-Ausgangswert $-2,28 \text{ AU} \pm 7,88$, nicht signifikant). Der Anstieg der Hornhautfeuchte war beim Andrücken mit dem Daumen ($\Delta 9,11 \text{ AU} \pm 13,39$, nicht signifikant) am höchsten, gefolgt vom Roller ($\Delta 4,64 \text{ AU} \pm 10,79$, nicht signifikant) und dem 2 N-Stempel bei gespannter Haut ($\Delta 3,22 \text{ AU} \pm 9,28$, nicht signifikant).

Der pH-Wert verringerte sich bei Benutzung des Rollers (Δ Endwert-Ausgangswert $-0,07 \pm 0,36$, nicht signifikant) und des 2 N-Stempels mit ($\Delta 0,02 \pm 0,28$, nicht signifikant) oder ohne Spannen der Haut ($\Delta -0,06 \pm 0,31$, nicht signifikant) und erhöhte sich bei Benutzung des Daumens ($\Delta 0,07 \pm 0,33$, nicht signifikant).



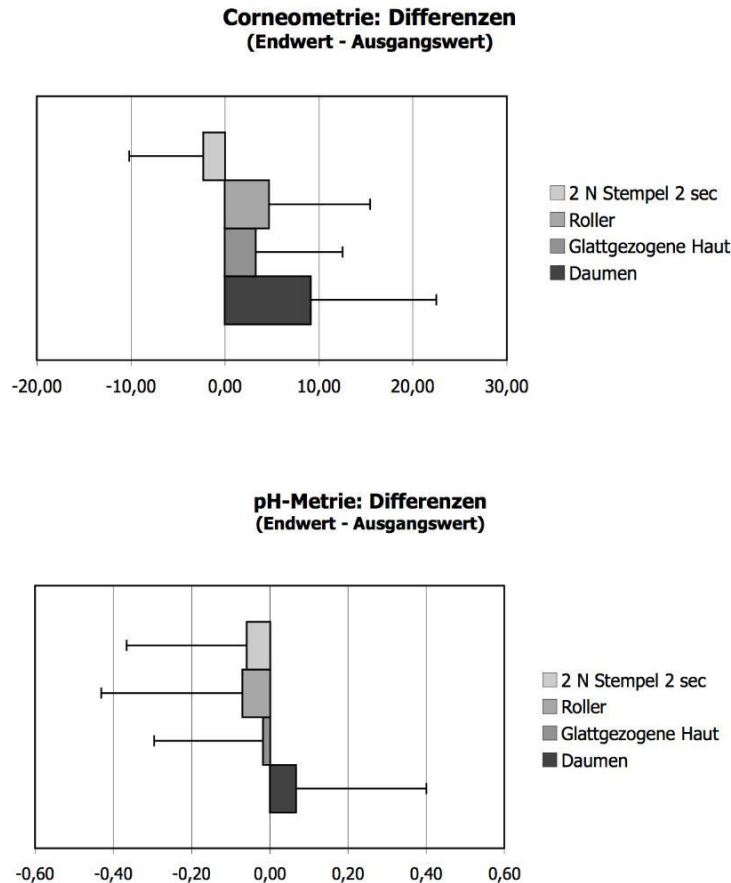


Abbildung 4.4: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßmethoden auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH

4.3 Der Einfluß verschiedener Klebematerialien

Drei verschiedene Klebematerialien wurden getestet: D-Squame®, Corneofix® und Scotch Blenderm®. Alle drei Klebematerialien wurden auf Feldern am Unterarm mit dem 2 N-Stempel für 2 sec angedrückt. Beim Blenderm®-Pflaster wurde auf die spektroskopische Auswertung sowie auf den Proteinnachweis mittels Proteinassay verzichtet, da das Pflaster nicht transparent ist und die Größe der von einer Rolle geschnittenen Pflasterstücke variierte.

Die D-Squame®-Klebescheiben führten zu einem höheren TEWL-Anstieg als die beiden anderen Klebefolien (vgl. Abbildung 4.5). Nach 22 Abrissen war dieser Unterschied gegenüber den Corneofix®-Klebefolien signifikant, nach 32 Abrissen auch gegenüber dem Blenderm®-Pflaster. Der TEWL-Anstieg war bei den

Corneofix®-Folien am geringsten. Zwischen den Corneofix®-Folien und dem Blenderm®-Pflaster bestand bei allen Messungen kein signifikanter Unterschied.

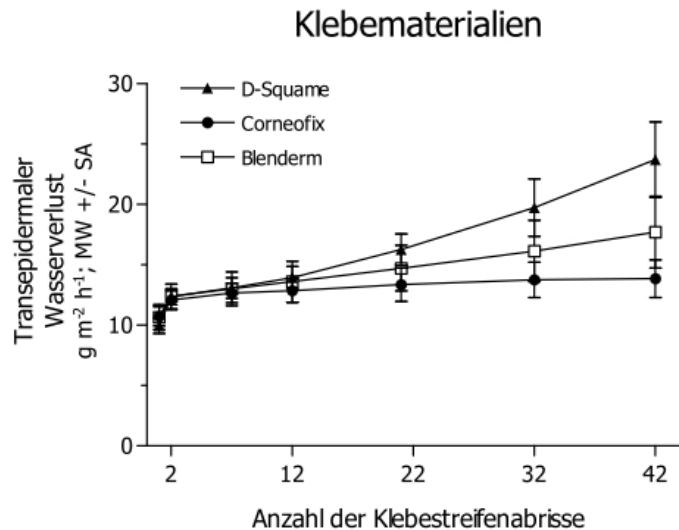


Abbildung 4.5: Auswirkungen unterschiedlicher Klebmaterialien auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung

Die kolorimetrische Proteinbestimmung und die spektroskopischen Messungen ergaben jeweils eine höhere Proteinmenge pro Abriß bzw. eine stärkere Lichtschwächung bei den D-Squame®-Klebescheiben (vgl. Abbildung 4.9 und 4.10). Diese höheren Werte bei den D-Squame® waren bereits nach 2 Abrissen und über den gesamten Verlauf der Abrisse statistisch signifikant.

Bei den chromametrischen Messungen zeigte sich im Vergleich zum Ausgangswert bei den D-Squame®-Klebescheiben (Δ Endwert-Ausgangswert $-0,52 \pm 0,97$, nicht signifikant) und den Corneofix®-Klebefolien (Δ $-0,60 \pm 1,13$, nicht signifikant) ein Abfall des a^* -Wertes, und bei dem Blenderm®-Pflaster (Δ $0,32 \pm 1,29$, nicht signifikant) eine Erhöhung des a^* -Wertes.

Die Hornhautfeuchte nahm bei den D-Squame®-Klebescheiben (Δ Endwert-Ausgangswert $-2,28 \text{ AU} \pm 7,88$, nicht signifikant) ab, bei den Corneofix®-Klebefolien (Δ $0,67 \text{ AU} \pm 2,34$, nicht signifikant) und dem Blenderm®-Pflaster (Δ $1,08 \text{ AU} \pm 6,04$, nicht signifikant) nahm sie zu.

Der pH-Wert nahm im Vergleich zum Ausgangswert bei allen drei Klebematerialien ab (D-Squame®: Δ Endwert-Ausgangswert $-0,06 \pm 0,31$; Corneofix®: $\Delta -0,08 \pm 0,21$; Blenderm®: $\Delta -0,13 \pm 0,30$, jeweils nicht signifikant).

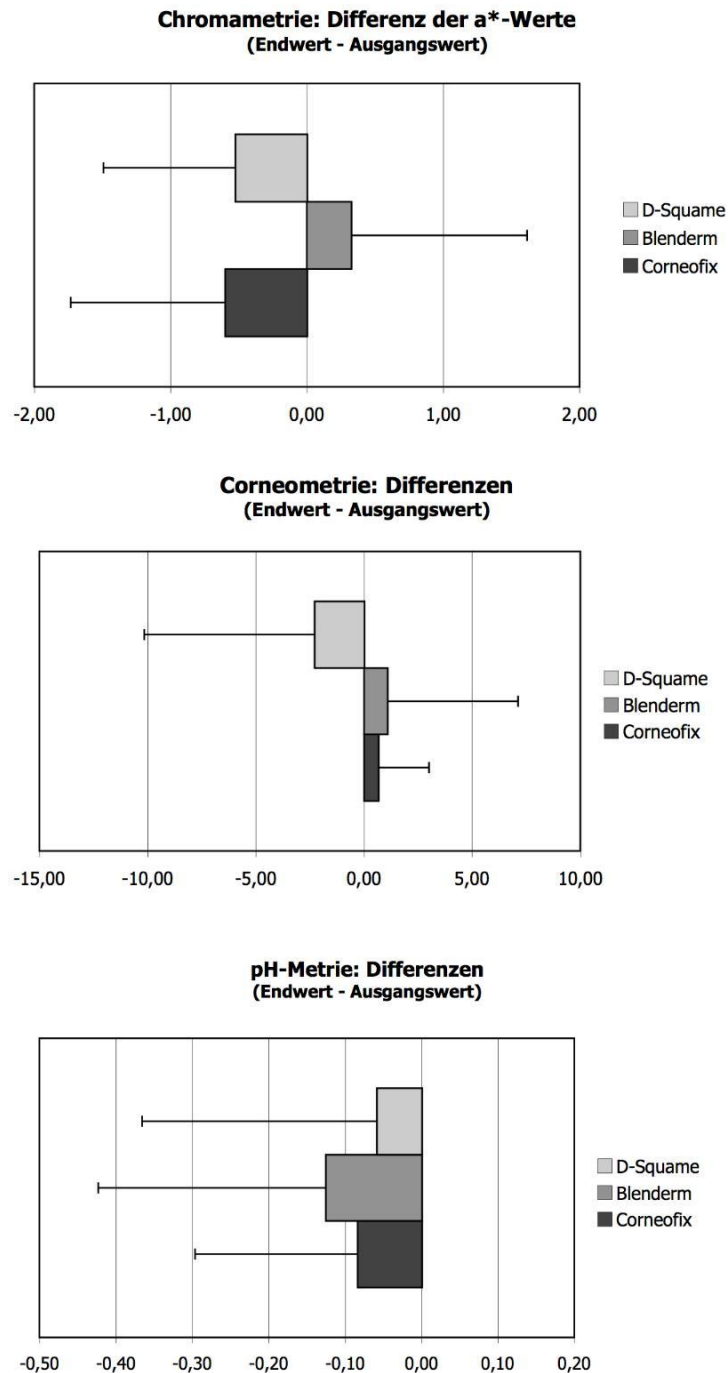


Abbildung 4.6: Auswirkungen unterschiedlicher Klebematerialien auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH

4.4 Der Einfluß unterschiedlicher anatomischer Lokalisationen

An allen Orten wurden D-Squame®-Klebescheiben benutzt, die mit dem 2 N-Stempel für 2 sec angedrückt wurden. Die TEWL-Werte zeigten den schnellsten und höchsten Anstieg bei der Durchführung des Klebestreifenabrisses an der Wange (vgl. Abbildung 3.7). Schon die Ausgangswerte des TEWL waren an der Wange signifikant höher als am Unterarm, am Oberarm oder am Rücken (Wange: $15,68 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, Unterarm: $9,95 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, Oberarm: $10,77 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, Rücken: $9,28 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Bereits nach 7 Abrissen war ein deutlich höherer Anstieg der TEWL-Werte an der Wange gegenüber den anderen Lokalisationen sichtbar und statistisch signifikant. Dies setzte sich über den gesamten Verlauf der Abrisse fort. Aufgrund der genannten Abbruchkriterien wurden die Klebestreifenabrisse an der Wange bei 9 Probanden nach 22 Abrissen beendet, bei den übrigen 3 Probanden bereits nach 12 Abrissen. Am Rücken wurden ebenfalls schnellere und höhere TEWL-Anstiege gemessen als am Unter- oder Oberarm, nach 22 Abrissen waren die Unterschiede signifikant. Am Oberarm wiederum stieg der TEWL schneller an als am Unterarm.

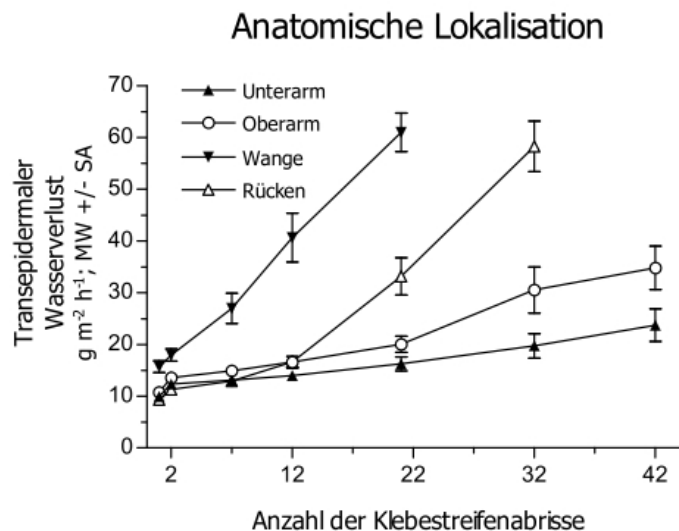


Abbildung 4.7: Auswirkungen unterschiedlicher anatomischer Lokalisationen auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung

Bezüglich der Menge der entfernten SC-Proteine ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Lokalisationen. Nach 2 und 12 Abrissen wurden die größten Proteinmengen auf den Klebescheiben von der Wange nachgewiesen, nach 22 und 32 Abrissen fanden sich die größten Proteinmengen auf den Klebescheiben vom Rücken. Am Oberarm wurde etwas mehr Protein entfernt als am Unterarm.

Bei den spektroskopischen Untersuchungen der Klebescheiben zeigten sich ähnliche Ergebnisse: Nach 2 Abrissen etwas größere Lichtschwächung durch die Klebescheiben von der Wange als durch diejenigen vom Rücken, deutlich geringere Lichtschwächung durch die Klebescheiben vom Ober- und Unterarm. Bei den folgenden Abrissen wurde dann jeweils eine stärkere Lichtschwächung durch die Klebescheiben vom Rücken gemessen, eine etwas geringere durch diejenigen von der Wange und eine deutlich geringere Lichtschwächung durch die Klebescheiben vom Ober- und Unterarm.

Der a^* -Wert der Chromametrie fiel am Unter- und Oberarm ab, an der Wange und am Rücken stieg er an (Unterarm: Δ Endwert-Ausgangswert $-0,52 \pm 0,97$; Oberarm: $\Delta -0,19 \pm 1,11$, Wange: $\Delta 2,13 \pm 2,01$; Rücken $\Delta 0,34 \pm 1,81$, jeweils nicht signifikant).

Die Corneometrie ergab am Unterarm eine Abnahme der Hornhautfeuchte, an den übrigen drei Lokalisationen eine deutliche Zunahme (Unterarm: Δ Endwert-Ausgangswert $-2,28 \text{ AU} \pm 7,88$; Oberarm: $\Delta 12,22 \pm 12,25$; Wange: $\Delta 21,00 \pm 8,07$; Rücken: $\Delta 21,56 \pm 10,78$, jeweils nicht signifikant).

Der pH fiel am Unterarm im Verlauf der Klebestreifenabrisse ab, an den übrigen Lokalisationen nahm er zu (Unterarm: Δ Endwert-Ausgangswert $-0,06 \pm 0,31$; Oberarm: $\Delta 0,02 \pm 0,21$; Wange: $\Delta 0,28 \pm 0,14$; Rücken: $\Delta 0,29 \pm 0,23$, jeweils nicht signifikant).

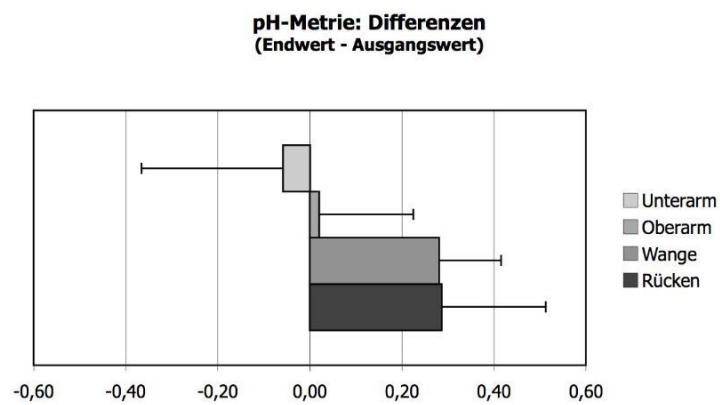
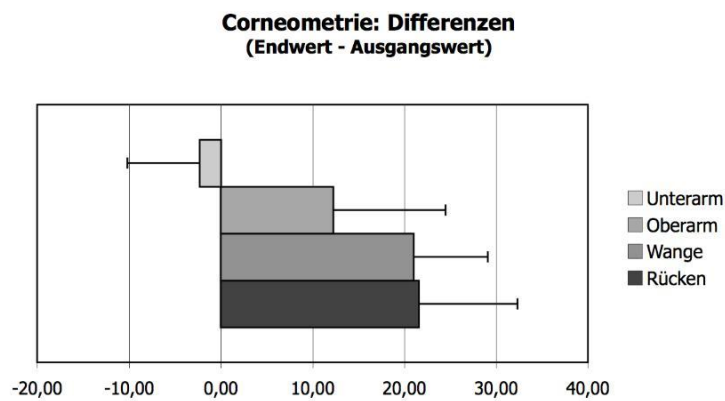
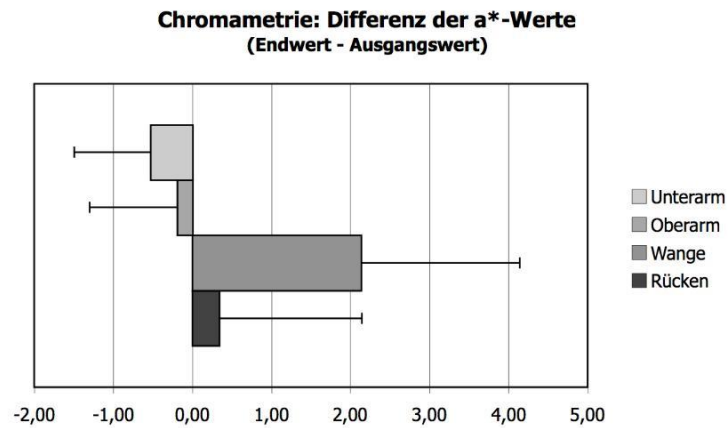


Abbildung 4.8: Auswirkungen unterschiedlicher anatomischer Lokalisationen auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH

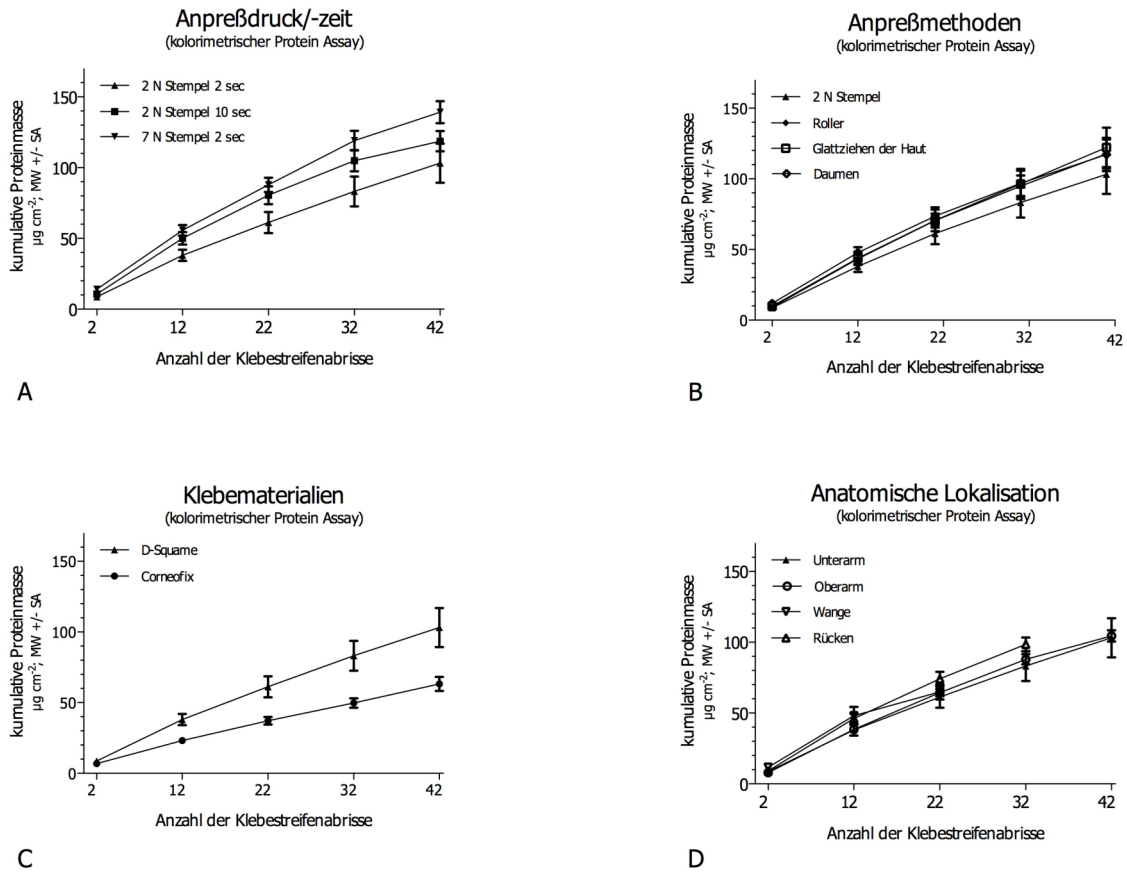


Abbildung 4.9: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke (A), -zeiten (A), -methoden (B), Klebematerialien (C) und anatomischer Lokalisationen (D) auf die SC-Kohäsion (kolorimetrischer Proteinassay)

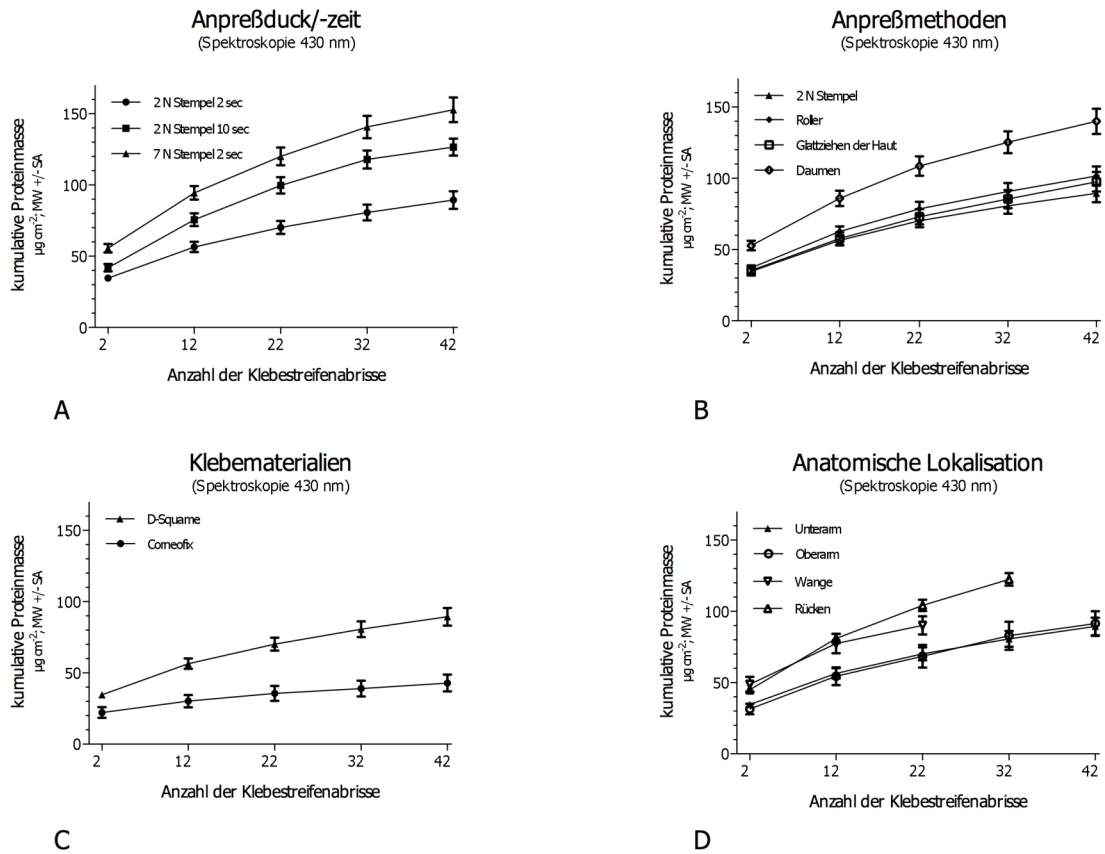


Abbildung 4.10: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke (A), -zeiten (A), -methoden (B), Klebematerialien (C) und anatomischer Lokalisationen (D) auf die SC-Kohäsion (optische Spektroskopie)

4.5 Der Einfluß einer okklusiven Behandlung

Um die Auswirkungen einer 24stündigen Okklusion zu untersuchen, wurde auf ein Feld eine Okklusionskammer mit einem mit Wasser getränkten Filterpapier aufgebracht. Nach Entfernung der Kammer und einer Äquilibrationszeit von 15 min wurden die Ausgangswerte der genannten biophysikalischen Messungen bestimmt und anschließend die Klebstreifenabrisse mit den D-Squame®-Klebescheiben und dem 2 N-Stempel und einer Anpreßzeit von 2 sec durchgeführt. Die Messungen wurden mit den Ergebnissen von einem nichtokkludierten Feld verglichen, auf dem die D-Squame®-Scheiben mit der gleichen Methode angedrückt wurden.

Der TEWL vor den Klebestreifenabrissen war nach 24stündiger Okklusion deutlich höher als ohne Okklusionsbehandlung (Okklusion $33,17 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$; keine Okklusion $9,95 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Bei allen Messungen während der Abrißdauer stieg der TEWL auf dem Okklusionsfeld schneller an als auf dem nichtokkludierten Feld. Bei sechs Probanden waren die Abbruchkriterien nach 22 Abrissen erfüllt, so daß die Abrisse beendet wurden, bei den restlichen 5 Probanden wurden die Abrisse nach 32 Abrissen beendet.

Die Menge entfernten SC-Proteins stieg auf dem okkludierten Feld stärker an als auf dem nichtokkludierten. Dieser Unterschied vergrößerte sich mit zunehmender Zahl der Klebestreifenabrisse. Die spektroskopischen Messungen zeigten einen ähnlichen Verlauf, allerdings war der Unterschied zwischen okkludiertem und nichtokkludiertem Feld nicht so groß wie beim Proteinassay. Auf den Klebescheiben der okklusionsbehandelten Felder war schon mit bloßem Auge eine deutlich inhomogenere Verteilung der Korneozytenkonglomerate als auf allen anderen Klebescheiben sichtbar; z.T. hafteten sogar größere zusammenhängende Korneozytenkonglomerate auf den Scheiben.

Die Hornhautfeuchte verringerte sich während der Okklusion und stieg dann während der Klebestreifenabrisse stark an, während sie sich auf dem nichtokkludierten Feld im Laufe der Abrisse verringerte.

Der pH-Wert wiederum erhöhte sich im Laufe der 24stündigen Okklusion und verringerte sich während der Klebestreifenabrisse etwas stärker als auf dem nichtokkludierten Feld.

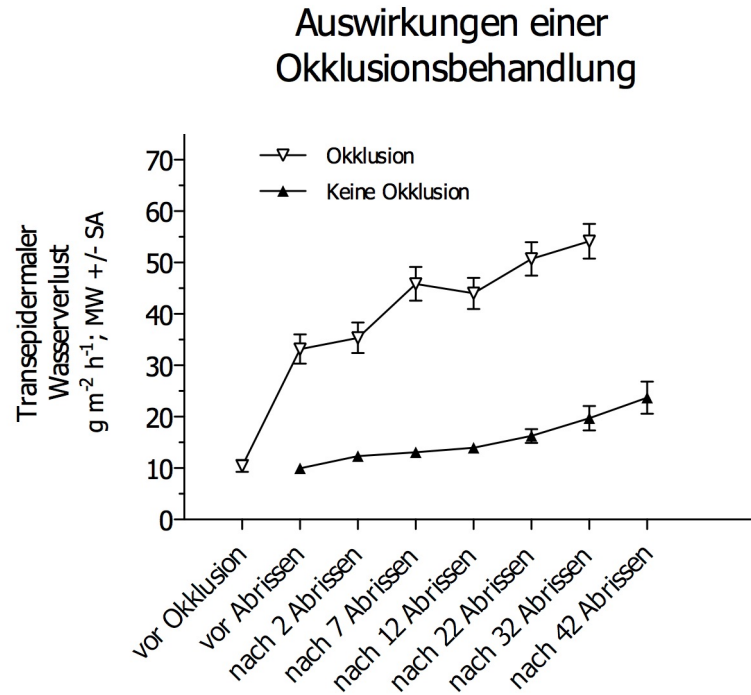


Abbildung 4.11: Auswirkungen einer 24stündigen Okklusionsbehandlung auf die Schädigung der SC-Barriere durch Klebestreifenabriss

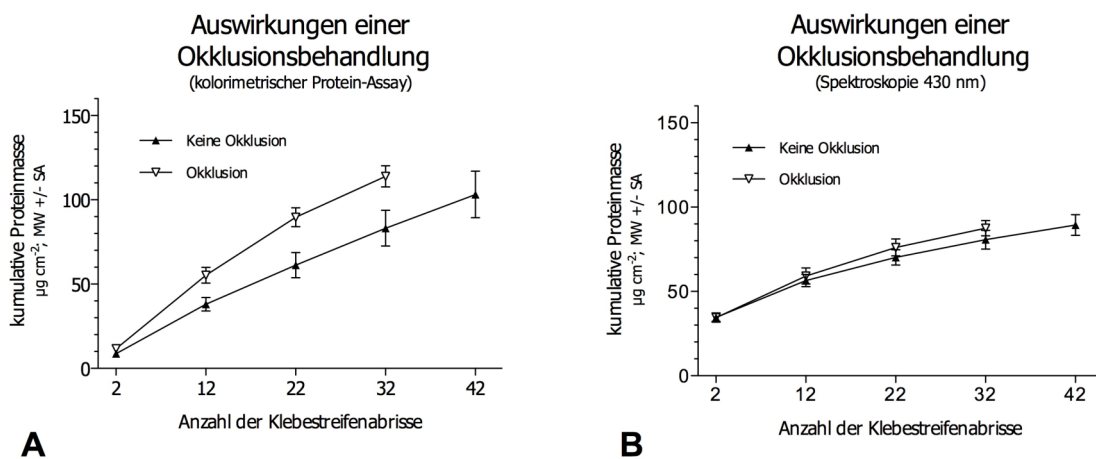


Abbildung 4.12: Auswirkungen einer 24stündigen Okklusionsbehandlung auf die SC-Kohäsion (kolorimetrischer Protein-Assay [A] und optische Spektroskopie [B])

4.6 Barriereregeneration

Um zu untersuchen, in wie weit die Regeneration der SC-Barriere durch unterschiedliche Abrißmethoden beeinflusst wird, wurden auf drei verschiedenen

Feldern (2 N-Stempel für 2 sec; 7 N-Stempel für 2 sec; Okklusion, dann 2 N-Stempel für 2 sec) Nachmessungen der biophysikalischen Parameter 24 und 48 Stunden nach den Klebestreifenabrissen durchgeführt.

Erfolgte das Anpressen der Klebescheiben mit dem 2 N-Stempel über eine Dauer von 2 Sekunden, fanden sich die niedrigsten TEWL-Anstiege (von $9,94 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ auf $23,70 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Wurden die Scheiben mit dem 7 N-Stempel über die gleiche Dauer angedrückt, stieg der TEWL viel schneller und höher an (von $10,22 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ auf $48,52 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Wurde das Testfeld vor den Klebestreifenabrissen über 24 Stunden okkludiert, ergaben sich schon vor den Abrissen wesentlich höhere Ausgangswerte des TEWL ($33,17 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$). Während der Abrisse vergrößerte sich der TEWL rasch und stieg nach 22 Abrissen auf $54,17 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ an. Bei den Messungen 24 und 48 Stunden nach den Klebestreifenabrissen konnte bei allen drei Methoden ein Abfall des TEWL beobachtet werden, ohne daß jedoch der Ausgangswert von vor den Abrissen erreicht wurde. Der Abfall des TEWL war bei allen drei Methoden innerhalb der ersten 24 Stunden größer als innerhalb der zweiten 24 Stunden nach den Abrissen. Auch war der Abfall des TEWL größer, wenn zuvor der Anstieg des TEWL größer war.

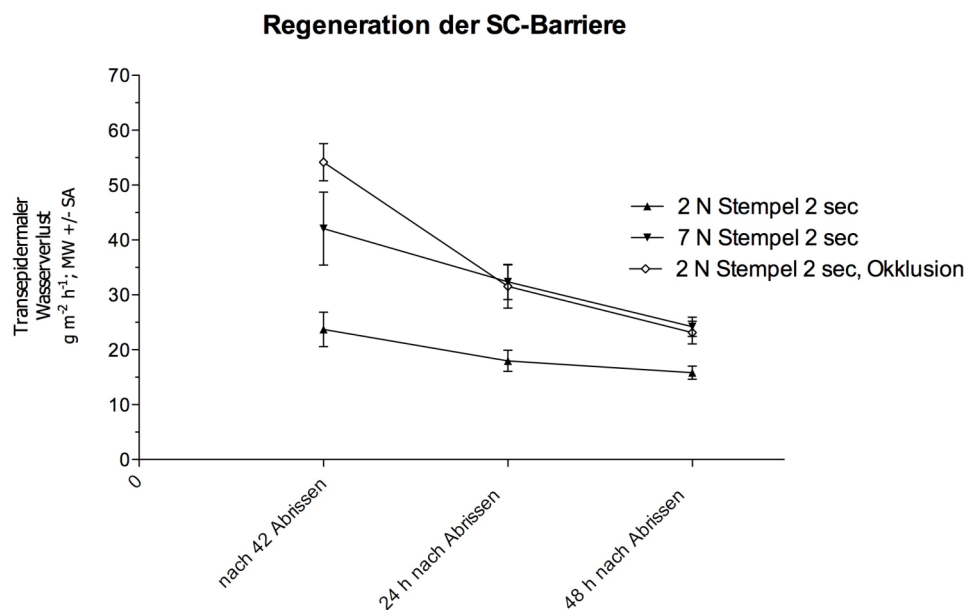


Abbildung 4.13: Regeneration der SC-Barriere nach vorheriger Schädigung durch Klebestreifenabriss mit unterschiedlichen Anpreßdrücken und mit und ohne Okklusion

Der Verlauf der chromametrischen Messungen war uneinheitlich: Wurden die Klebescheiben mit dem 2 N-Stempel angedrückt, war der a^* -Wert nach den Klebestreifenabrissen geringfügig niedriger, wurden sie mit dem 7 N-Stempel angedrückt, war der a^* -Wert nach den Abrissen höher als der jeweilige Ausgangswert. Bei beiden Methoden stieg er nach 24 Stunden an und näherte sich nach 48 Stunden dem Ausgangswert (Werte jeweils nicht signifikant).

Die Corneometrie ergab für das Feld 3 (7 N-Stempel) und das Feld 10 (Okklusion) einen Anstieg während der Klebestreifenabrisse und für das Feld 1 (2 N-Stempel) einen Abfall. Auf den Feldern 3 und 10 fiel der Hornhautfeuchtwert nach 24 und 48 Stunden wieder ab, während er auf Feld 1 nach 24 Stunden anstieg und nach 48 Stunden wieder abfiel (Werte jeweils nicht signifikant).

Der pH fiel auf Feld 1 und Feld 10 im Verlauf der Abrisse ab, auf Feld 3 stieg er an. In den ersten 24 Stunden nach den Abrissen fiel der pH-Wert dann auf den Feldern 1 und 3, auf Feld 10 erhöhte er sich um einen geringen Betrag. Innerhalb der zweiten 24 h war dann auf allen drei Feldern ein weiterer Abfall des pH sichtbar, der deutlicher als in den ersten 24 Stunden ausgeprägt war (Werte jeweils nicht signifikant).

4.7 Korrelation zwischen spektroskopisch und kolorimetrisch bestimmter Masse des entfernten Stratum corneum

Zwischen den beiden verwendeten Methoden zur Bestimmung des entfernten SC-Materials fand sich eine gute und statistisch signifikante Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten (nach Pearson) von 0,704 und einem R^2 von 0,496.

5 Diskussion

Der Klebestreifenabrißtest ist ein weitverbreitetes Untersuchungsverfahren, das bei Analysen der Barrierschädigung und –regeneration der Haut sowie bei Studien zur Penetration von Fremdstoffen und lokal angewandter Medikamente durch die Haut breite Verwendung findet. Sein physikalisches Grundprinzip ist die Überwindung der Kohäsion zwischen den Korneozyten des SC durch die Adhäsion zwischen den Klebescheiben und den Korneozyten. Um eine unterschiedlich ausgeprägte Schädigung des SC, gleichbedeutend einer Störung der Barriere, zu erreichen, kann zum einen versucht werden, die Kohäsion zwischen den Korneozyten zu verändern, zum anderen kann durch verschiedene Methoden der Applikation der Klebematerialien an die Korneozyten eine unterschiedliche Adhäsion erreicht werden. Anders ausgedrückt, wenn unterschiedliche Methoden, die die Adhäsion zwischen Klebematerial und Korneozyten beeinflussen, zum Klebestreifenabriß benutzt werden, resultiert dies in einer unterschiedlichen Barriestörung. Daten, die mit verschiedenen Methoden des Klebestreifenabrisses gewonnen wurden, sind damit nur bedingt vergleichbar. Zielsetzung der vorliegenden Arbeit war, verschiedene methodische Variationen des Klebestreifenabrißtestes in ihrem Einfluß auf das Ausmaß der Schädigung der Stratum-corneum-Barriere zu untersuchen und einen standardisierten Vorgang des Klebestreifenabrisses anzubieten.

5.1 Unterschiedliche Anpreßdrücke und –zeiten

Einen wesentlichen Einflußfaktor stellt der Anpreßdruck, mit dem die Klebescheiben an die Haut gepreßt werden, dar. Eng damit verbunden ist die Anpreßdauer. Ein höherer Anpreßdruck führte in dieser Untersuchung sowohl zu einem schnelleren als auch zu einem größeren Anstieg des TEWL als Ausdruck einer schnelleren und stärkeren Barrierschädigung. Gleichsinnige Auswirkungen hatten verschiedene Anpreßzeiten: längere Anpreßzeiten führten zur einer schnelleren und ausgeprägteren Barrierschädigung.

Höherer Anpreßdruck und längere Anpreßdauer führen über eine verstärkte Haftung der Klebescheiben an den Korneozyten (und damit über eine verstärkte Adhäsion),

zu einer größeren Barrierschädigung. Verschiedene Untersuchungen zu physikalischen Interaktionen biologisch und medizinisch genutzter Klebmaterialien mit dem entsprechenden Untergrund (Tordjeman et al. 2000, Webster 1997) wiesen nach, daß die Haftung zwischen Klebmaterial und Untergrund direkt vom angewendeten Anpreßdruck abhängt. Im Falle des hier untersuchten Klebestreifenabrißtests wird durch einen höheren Anpreßdruck die Haut, ähnlich wie bei Benutzung des Rollers, gestrafft, so daß nun auch die durch die Felderung der Haut entstehenden Täler in Verbindung mit den Klebescheiben treten. Dadurch entsteht eine vergrößerte Kontaktfläche zwischen Klebescheiben und SC und so wird wiederum die Haftung vergrößert. Ein von Weigand und Gaylor (1973) beim Klebestreifenabrißtest beobachteter Anstieg der Hautfeuchtigewerte und eine damit verbundene verminderte Kohäsion zwischen den Korneozyten scheint bei den in dieser Untersuchung benutzten kurzen Anpreßzeiten (jeweils 2 und 10 sec) keine Rolle zu spielen.

5.2 Unterschiedliche Anpreßmethoden

Auch verschiedene Methoden, mit der die Klebescheiben an die Haut gedrückt wurden, verursachten bei gleicher Anzahl von Abrissen ein unterschiedliches Ausmaß der Barrierschädigung. Van der Molen et al. (1997) wiesen nach, daß, bedingt durch die Furchung der Haut, beim Klebestreifenabrißtest SC-Material aus unterschiedlichen Tiefen bzw. Zellschichten an einem Klebestreifen haftet. Gleichzeitig resultierte so eine unvollständige Entfernung des SC, da die in den Furchen gelegenen Korneozyten durch den Klebestreifenabriß nicht erfaßt wurden. Insbesondere bei Untersuchungen zur Penetration von topisch anzuwendenden Pharmaka führt dies zu verfälschten Ergebnissen. Um diesen Effekt zu umgehen, wurden zusätzlich zum einfachen Anpressen der Klebescheiben mit einem Stempel drei weitere Verfahren getestet. Auf einem Testfeld wurde die Haut vor dem Aufbringen der Klebescheiben durch Fingerzug gestrafft, auf einem weiteren Feld wurden die Klebescheiben mit einem Roller angepreßt, auf einem dritten wurden sie mit dem Daumen angedrückt. Alle drei Verfahren führten zu einer stärkeren und schnelleren Barrierschädigung als das alleinige Anpressen mit einem Stempel. Dabei wurde bei Verwendung des Rollers ein rascherer Anstieg des TEWL erreicht als durch das bloße Straffziehen der Haut

und nachfolgendes Anpressen der Klebescheiben mit einem Stempel. Wurden die Klebescheiben mit dem Daumen in einer kreisförmigen Bewegung angedrückt, resultierte wiederum ein schnellerer und stärkerer Anstieg des TEWL als bei Verwendung des Rollers. Als Grund für die durch diese drei Verfahren verursachte schnellere und größere Barrierschädigung im Vergleich zum alleinigen Anpressen mit einem Stempel nehmen wir an, daß durch diese Verfahren die oben beschriebene Furchung der Haut vermindert wird und so ein gleichmäßigeres und vollständigeres Abtragen des SC resultiert. Für das Anpressen der Klebescheiben mit dem Roller konnten Lademann et al. (2002) zeigen, daß dadurch der Einfluß der Hautfurchung deutlich minimiert wird.

5.3 Unterschiedliche Klebematerialien

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Klebematerialien unterschieden sich deutlich in ihrer Fähigkeit zur SC-Barrierschädigung. Das D-Squame® führte zu den schnellsten und höchsten TEWL-Anstiegen, diese waren gegenüber den anderen Klebematerialien signifikant. Mit den Corneofix®-Klebefolien konnten zwar die oberen, lose haftenden SC-Schichten entfernt werden, im Verlauf der nächsten 40 Abrisse waren jedoch keine signifikanten Veränderungen des TEWL zu beobachten. Das Blenderm®-Pflaster nahm bezüglich der TEWL-Änderungen eine Mittelstellung zwischen den beiden anderen Klebematerialien ein, ohne daß sich allerdings signifikante Änderungen im Vergleich zu den Corneofix®-Folien zeigten.

Da alle drei Klebematerialien mit der gleichen Methode (2 N-Stempel, Anpreßzeit 2 sec) appliziert wurden, müssen die gefundenen Unterschiede bezüglich des Ausmaßes der Barrierschädigung auf unterschiedlichen Klebeeigenschaften der Klebematerialien beruhen. Detaillierte Angaben zu den physikalischen und chemischen Eigenschaften der untersuchten Materialien lagen nicht vor. Offensichtlich wird aber durch das D-Squame® eine deutlich höhere Adhäsion zwischen Klebescheibe und SC aufgebaut, so daß die Kohäsion zwischen den Korneozyten besser überwunden werden kann, als bei den anderen Klebematerialien. Bashir et al. (2001) untersuchten in ihrer Arbeit ebenfalls unterschiedliche Klebematerialien, darunter das D-Squame®, und fanden signifikante TEWL-Änderungen zwischen den D-Squame®-Scheiben und einem Rollenpflaster

(Micropore®), allerdings keine Signifikanzen bezüglich der entfernten SC-Masse (gemessen mit einem kolorimetrischen Proteinassay). Tsai et al. (1991a) konnten bei Mäusen deutliche Unterschiede in Bezug auf die Barrierschädigung bei drei verschiedenen Klebematerialien beobachten. Die hier verwendeten Untersuchungen zum Ausmaß der Barrierschädigung sowie der Kohäsion innerhalb des SC erlauben die Feststellung, daß die D-Squame®-Klebescheiben zur Erzeugung einer relevanten Barrierschädigung geeignet sind.

5.4 Unterschiedliche anatomische Lokalisationen

Große Unterschiede in Bezug auf Anstieg des TEWL und somit das Ausmaß und die Geschwindigkeit der Barrierschädigung konnten bei den unterschiedlichen untersuchten anatomischen Lokalisationen beobachtet werden. Schon vor Beginn der Abrisse waren unterschiedliche Ausgangswerte für den TEWL in den untersuchten Körperregionen nachweisbar. Die höchsten TEWL-Ausgangswerte konnten an der Wange gemessen werden, gefolgt von Oberarm, Unterarm und Rücken. Diese regionalen Unterschiede im TEWL sind bekannt (zusammengefaßt in Pinnagoda et al. 1990). Ausgehend von diesem erhöhten TEWL vor den Abrissen war an der Wange jedoch auch ein schnellerer Anstieg des TEWL, gleichbedeutend mit einer stärkeren Barrierschädigung, als am Rücken, Oberarm und Unterarm zu verzeichnen. Die langsamsten TEWL-Anstiege zeigten sich am Unterarm. Diese Ergebnisse bestätigen frühere Untersuchungen, in denen ähnliche Barrierschädigungsmuster gesehen wurden (Tokumura et al. 2005, Löffler et al. 2004). Als mögliche Ursache kommen am ehesten regionale Unterschiede im Aufbau des SC in Betracht. So berichten mehrere Untersuchungen von einer regional unterschiedlichen Dicke des SC bzw. der Epidermis (Sandby-Møller et al. 2003, Holbrook und Odland 1974), einer unterschiedlichen Anzahl von Schichten des SC (Ya-Xian et al. 1999, Holbrook und Odland 1974) und einer unterschiedlichen Dicke der Korneozyten selbst (Plewig und Marples 1970, Plewig 1970) in verschiedenen Körperregionen. Die Barriere der Haut insbesondere gegenüber Wasser ist ganz überwiegend im SC lokalisiert (Elias et al. 2003). Wenn eine gleiche Kohäsion zwischen den Korneozyten in verschiedenen Körperregionen angenommen wird, wird ein dünneres SC schneller durch die Klebestreifenabrisse abgetragen und hieraus resultiert ein schnellerer Anstieg des

TEWL. Die physiologische Bedeutung einer unterschiedlichen Dicke des SC in verschiedenen Körperregionen scheint in deren unterschiedlicher Beanspruchung durch mechanische und physikalische (UV-Strahlung) Faktoren begründet zu sein, bei größer Beanspruchung resultiert eine größere Dicke und umgekehrt.

5.5 Interindividuelle Unterschiede

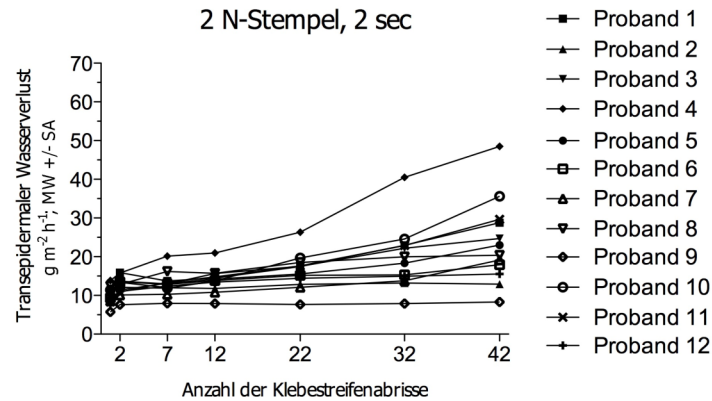
Auffällig waren zum Teil deutliche interindividuelle Unterschiede im Ausmaß der hervorgerufenen Barrierschädigung. Dabei waren vor allem die Extremabweichungen in den TEWL-Veränderungen konstant. Wies ein Proband überdurchschnittlich hohe TEWL-Anstiege bei einer Anpreßmethode auf, so stieg der TEWL bei diesem Probanden auch bei anderen Anpreßmethoden überdurchschnittlich an. War umgekehrt bei einem anderen Probanden bei einer Anpreßmethode nur ein geringer TEWL-Anstieg zu beobachten, so zeigte dieser Proband auch bei anderen Anpreßmethoden unterdurchschnittliche TEWL-Anstiege. Auch führten einige Anpreßmethoden nur bei einem Teil der Probanden zu einer relevanten Barrierschädigung. So stiegen die TEWL-Werte nach 42 Abrissen beispielsweise bei Benutzung des 2 N-Stempels für 2 Sekunden bei einem Probanden auf etwa $50 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ an, zwei Probanden wiesen jedoch keine relevanten Anstiege auf (Abbildung 5.1). Bei dem Probanden, der bei allen Anpreßmethoden überdurchschnittliche TEWL-Anstiege aufwies, führte auch das Corneofix® zu einem signifikanten TEWL-Anstieg, während bei allen anderen Probanden keine relevanten TEWL-Veränderungen sichtbar wurden. Weiterhin war zu beobachten, daß der Proband mit den überdurchschnittlich starken TEWL-Veränderungen auch die höchsten TEWL-Ausgangswerte aufwies, der Proband mit den unterdurchschnittlichen TEWL-Anstiegen zeigte die niedrigsten Ausgangswerte.

Interessanterweise galten diese Beobachtungen nur für die Testfelder an den Unterarmen, während die interindividuellen Unterschiede der TEWL-Veränderungen in den anderen untersuchten Regionen weniger ausgeprägt und weniger eindeutig waren.

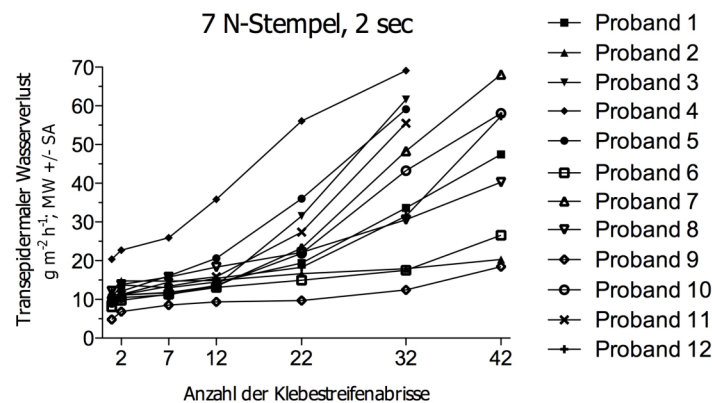
Insgesamt decken sich diese Befunde mit denen früherer Untersuchungen. Bashir et al. (2001) fanden deutliche interindividuelle TEWL-Unterschiede nach 40 Klebestreifenabrissen. Während sich bei einem Probanden kaum TEWL-Unterschiede

zeigten, stieg der TEWL bei einem anderen Probanden um etwa das Fünffache an. Van der Walk et al. (1990) führten bei sieben Probanden Klebestreifenabrisse durch, bis ein bestimmter TEWL erreicht war ($30 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), die dafür nötige Anzahl von Klebestreifenabrissen unterschied sich zwischen einzelnen Probanden um nahezu das Zweifache. Auch Löffler et al. (2004) konnten deutliche interindividuelle Unterschiede im Ausmaß der Barrierschädigung zeigen. Die physiologischen Grundlagen dieser unterschiedlichen Reaktion auf eine Barrierschädigung durch Klebestreifenabrisse sind wenig untersucht. Interindividuelle morphologische Unterschiede sind z.B. bezüglich der Dicke und der Anzahl der Zellschichten des SC beschrieben (Sandby-Møller et al. 2003, Ya-Xian et al. 1999, Holbrook und Odland 1974). Michel et al. (1988) sowie Legrain et al. (1991) fanden geringe interindividuelle Unterschiede in der quantitativen Zusammensetzung der cornified envelope-Proteine.

Es kann spekuliert werden, daß für die interindividuellen Unterschiede im Ausmaß der hervorgerufenen Barrierschädigung nicht allein morphologische Unterschiede im Aufbau des SC wie dessen Dicke oder die Anzahl seiner Zellschichten verantwortlich sind, sondern daß sich z.B. auch Unterschiede in der Anzahl der Korneodesmosomen mit resultierender unterschiedlicher Kohäsionskraft zwischen den Korneozyten oder der Zusammensetzung der interzellulären Lipide finden. Ebenso ist eine unterschiedlich stark ausgeprägte Aktivität proteolytischer Enzyme, die in den Abbau der interzellulären Verbindungen involviert sind, denkbar.



A



B

Abbildung 5.1: Darstellung interindividueller Unterschiede im Ausmaß der SC-Barrierschädigung für einen geringen (A) und einen größeren Anpreßdruck (B).

5.6 Auswirkungen auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und pH

Die Änderungen der übrigen hautphysiologischen Untersuchungen (Chromametrie, Corneometrie, pH-Metrie) bei Anwendung verschiedener Applikationsformen waren unterschiedlich und zeigten eine grobe Korrelation mit dem Ausmaß der Barrierschädigung.

Die Applikationsformen, die eine starke SC-Barrierschädigung verursachten (längere Anpreßdauer, höherer Anpreßdruck, Anpressen der Klebescheiben mit dem Daumen), zeigten einen Anstieg der Chromametrie- a^* -Werte, was im Sinne einer Hautreizung mit entsprechender Rötung zu interpretieren ist. Gleichzeitig führten sie zu einem im

Vergleich zum Ausgangswert höheren Hornhautfeuchtwert. Durch eine starke Barrierschädigung werden auch tiefere Hornhautschichten erreicht, die sich durch einen im Vergleich zu oberflächlichen Schichten höheren Wassergehalt auszeichnen. Dies bedingt den beobachteten Anstieg der Hornhautfeuchtwerte bei den Applikationsformen, die zu einer starken und raschen Barrierschädigung führen. Bei der pH-Metrie konnte bei diesen Applikationsformen im Laufe der Klebestreifenabrisse ein Anstieg der pH-Werte im Vergleich zu den Ausgangswerten gesehen werden. Ursächlich ist wiederum ein Erreichen tieferer Hornhautschichten. Dort herrscht, bedingt durch den pH-Gradienten innerhalb des SC, ein höherer pH als in oberflächlicheren SC-Schichten.

Bei den Applikationsformen, die zu einer weniger ausgeprägten Barrierschädigung führten, waren die Veränderungen von Hautfarbe, Hornhautfeuchte sowie Oberflächen-pH uneinheitlicher. Wurden die Klebescheiben mit leichtem Druck für eine kurze Zeit angepreßt, kam es zu einer geringen Verminderung des Chromametrie-a*-Wertes, des Hornhautfeuchtwertes und des pH-Wertes (jeweils gegenüber dem Ausgangswert). Wurde die Haut während des Andrückens der Klebescheiben gestrafft, war ebenfalls ein leichter Abfall des Chromametrie-a*-Wertes sowie des pH-Wertes zu verzeichnen, die Hornhautfeuchte stieg jedoch leicht an. Ein ähnliches Muster war bei Verwendung des Rollers zum Anpressen der Klebescheiben zu beobachten. Die Veränderungen des Chromametrie-a*-Wertes und des pH-Wertes sind so gering, daß sie möglicherweise noch im Rahmen der normalen Schwankung dieser Werte erklärt werden können. Eventuell war die durch diese Applikationsformen hervorgerufene Schädigung des SC zwar ausreichend, um eine signifikante Störung der Barrierefunktion zu bewirken, andererseits aber zu gering, um zu einer relevanten Veränderung der anderen hautphysiologischen Parameter zu führen. Insbesondere zeigt der pH-Gradient in den oberen Schichten des SC einen nur geringen Abfall (zur Oberfläche hin), relevante Veränderungen finden sich im mittleren SC sowie an der Grenze zum Stratum granulosum (Fluhr und Elias 2002). Eine ähnliche Erklärung kann für die beobachteten Veränderungen der Hornhautfeuchte gelten: Die Schädigung des SC durch die genannten Applikationsformen war wahrscheinlich noch nicht so groß, daß relevante Veränderungen der Hornhautfeuchte auftraten. Auch für die Hornhautfeuchte gibt es

entlang des SC einen Gradienten, der wahrscheinlich in den oberflächlichen SC-Schichten einen relativ flachen Verlauf zeigt.

Ähnliche Muster wurden bei den unterschiedlichen Körperstellen gefunden. Im Gesicht und am Rücken, wo sich schnelle und große TEWL-Anstiege fanden, konnten auch die erwarteten Veränderungen von Hautfarbe (Anstieg des Chromametrie- a^* -Wertes), Hornhautfeuchte (Anstieg) und pH-Werte (Anstieg) beobachtet werden.

Für die untersuchten Klebematerialien fanden sich wiederum keine einheitlichen Veränderungen hinsichtlich Hautfarbe, Hornhautfeuchte und pH. Die D-Squame®-Klebescheiben führten zwar zur stärksten Barrierestörung, allerdings zu einem geringen Abfall des Chromametrie- a^* -Wertes, der Hornhautfeuchte und des pH-Wertes. Beim Blendederm®-Pflaster, welches deutlich geringere TEWL-Veränderungen bewirkte, wurden ein leichter Anstieg von Chromametrie- a^* -Wert und Hornhautfeuchte sowie ein Abfall des pH gesehen. Beim Corneofix®, welches kaum zu einer Barrierestörung führte, kam es zu einem leichten Anstieg der Hornhautfeuchte, während die beiden anderen Parameter gering abfielen. Entweder sind die beobachteten Veränderungen so gering, daß sie noch innerhalb der normalen Schwankungsbreite der Werte interpretiert werden müssen oder die unterschiedlichen Klebematerialien beeinflussen die untersuchten hautphysiologischen Parameter unterschiedlich stark. So ist es möglich, daß die D-Squame®-Klebescheiben eher zu einer Barrierestörung mit entsprechenden TEWL-Veränderungen führen, während das Blendederm®-Pflaster eher irritative Wirkungen mit Veränderungen des Chromametrie- a^* -Wertes hat.

Genauere Beurteilungen der Änderung von Hautfarbe, Hornhautfeuchte und pH-Wert bei unterschiedlich starker Schädigung der Hautbarriere bedürfen detaillierterer Untersuchungen dieser Parameter und waren in diesem Ausmaß nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

5.7 Okklusionsbehandlung

Neben den bereits erwähnten untersuchten Einflußfaktoren wurden auf einem Testfeld die Auswirkungen einer 24stündigen Okklusionsbehandlung analysiert. Unter Okklusion wird in der Dermatologie die Bedeckung der Haut durch (Wasser-) undurchlässige Materialien, die zu einer Unterbrechung des TEWL führen (Zhai und

Maibach 2002, Bucks et al. 1988), verstanden. Neben dem therapeutischen Einsatz okklusiver Membranen zur Resorptionsverbesserung topisch applizierter Medikamente werden auch pathologische Auswirkungen einer Okklusion angenommen; so spielt prolongierte oder wiederholte Okklusion bei der Entstehung des Kontaktekzems eine wichtige Rolle (Praessler und Fluhr 2006). Okklusion führt zu einer Schädigung der SC-Barriere (Zhai und Maibach 2002, Fluhr et al. 1999a). Warner et al. konnten mit elektronenmikroskopischen Arbeiten zeigen, daß eine 24stündige Okklusionsbehandlung zu Störungen der SC-Architektur mit Veränderungen der interzellulären Lipidlamellen sowie einen vermehrten Abbau von Korneodesmosomen bewirkt (Warner et al. 2003, Warner et al. 2002).

In der vorliegenden Arbeit wurde nach erfolgter Okklusion bereits vor den Klebestreifenabrissen ein deutlich erhöhter TEWL-Wert gemessen. Ausgehend von diesem erhöhten Basis-Wert kam es während der Klebestreifenabrissse zu einem raschen und hohen TEWL-Anstieg. Bei einem minimalen Intervall von 30 Minuten zwischen Entfernung der Okklusionskammer und ersten TEWL-Messungen kann zwar ein fälschlicherweise zu hoch bestimmter TEWL aufgrund der vermehrten SC-Hydratation nicht ganz ausgeschlossen werden, allerdings spricht eine Reihe von Argumenten für eine durch die Okklusion bedingte Schädigung der SC-Barriere. Agner und Serup (1993) fanden bei sequentiellen TEWL-Bestimmungen nach 24stündiger Okklusion einen Abfall erhöhter TEWL-Werte nach 30 Minuten und weniger ausgeprägt nach 60 Minuten nach Beendigung der Okklusion und interpretierten diese TEWL-Erhöhen als passagere SC-Barriereschädigung. In der vorliegenden Arbeit wurden maximale TEWL-Werte probandenabhängig nach 20-30 Abrissen erreicht, vergleichbar einem Anpressen der Klebescheiben mit höherem Druck. Auch die Glanzschicht wurde bei nahezu allen Probanden nach 20-30 Abrissen erreicht. Der Verlauf der Barriereregeneration entsprach ebenfalls dem bei Anpressen der Klebescheiben mit hohem Druck. Schließlich fanden sich auf den Klebescheiben deutlich höhere Proteinmengen als auf den Klebescheiben des Testfeldes ohne Okklusion, teilweise waren auf Scheiben größere zusammenhängende SC-Konglomerate sichtbar.

5.8 Barriereregeneration

Auf drei Testfeldern (hoher und niedriger Anpreßdruck für jeweils 2 Sekunden sowie 24stündige Okklusion vor Durchführung der Klebestreifenabrisse jeweils unter Verwendung der D-Squame®-Klebescheiben) fand zur Untersuchung der Regeneration der SC-Barriere eine Nachbeobachtung mit Messungen jeweils 24 und 48 Stunden nach den Klebestreifenabrissen statt.

Die sofort nach einer Störung der SC-Barriere beginnende Regeneration beinhaltet verschiedene Prozesse, die in einer schnellen, etwa die ersten 12 Stunden umfassenden Phase und einer verzögerten Phase, die sich über drei bis vier Tage streckt, ablaufen (Ghadially et al. 1995). Der TEWL bzw. seine Veränderungen im Rahmen einer Barrierschädigung scheint eine wichtige Signalfunktion für die nachfolgende Barriereregeneration zu haben (Elias et al. 2003, Grubauer et al. 1989). Unter anderem bewirkt der Anstieg des TEWL bei einer akuten Barrierschädigung den Zusammenbruch des physiologischen Kalzium-Gradienten entlang des SC. Diese Änderung der Kalziumkonzentration wird als Signal für die Ausschüttung präformierter Keratosomen (lamellar bodies) angesehen, die den ersten Schritt im Rahmen der Barriereregeneration darstellen (Feingold 2007, Menon et al. 1994, Menon et al. 1992). Die Keratosomen enthalten die Lipide der Interzellulärsubstanz bzw. deren Vorstufen, deren Freisetzung zu einer bis zu 50%igen Wiederherstellung der Barrierefunktion führen kann (Elias et al. 2003). Gleichzeitig kommt es zu einem temporären Anstieg der Synthese von zunächst Cholesterol, freien Fettsäuren und Vorstufen von Ceramiden. Verzögert steigt die Produktion von Ceramiden selbst an. Diese dienen der Generation neuer Keratosomen. Ebenfalls verzögert können eine vermehrte DNA-Synthese sowie Veränderungen von Zytokin-Spiegeln nachgewiesen werden.

Bei den in dieser Arbeit erfolgten Untersuchungen zur Regeneration nach Barrierschädigung war zunächst ein von der zur Applikation der Klebematerialien abhängiger Anstieg des TEWL direkt nach den Klebestreifenabrissen zu beobachten (siehe oben). Nach 24 Stunden kam es zu einem Rückgang der TEWL-Werte in einem Größenrahmen von 25-45%, der sich nach 48 Stunden fortsetzte, ohne daß zu diesem Zeitpunkt die Ausgangs-TEWL-Werte vor den Klebestreifenabrissen erreicht wurden. Diese Rückbildung korreliert mit den oben angegebenen Werten zur

Barriereregeneration aus der Literatur (Fluhr et al. 2002, Zhai et al. 1998, Ghadially et al. 1995). Weiterhin war zu beobachten, daß die Regeneration absolut und relativ um so schneller erfolgte, je ausgeprägter die vorangegangene Barrierschädigung war. Möglicherweise stellen stärkere TEWL-Anstiege mit konsekutiven (in der vorliegenden Arbeit nicht untersuchten) Veränderungen der Kalziumkonzentration einen stärkeren Reiz für die genannten Mechanismen zur Wiederherstellung der SC-Barriere dar, so daß eine gewisse Korrelation zwischen dem Grad der Barrierschädigung (abzulesen an den TEWL-Veränderungen) und der Geschwindigkeit der Barriereregeneration vermutet werden kann.

5.9 Bestimmung der SC-Masse mit kolorimetrischer und spektroskopischer Methode

Die sogenannte „integrity“ des SC ist ein Maß der Adhäsion der Korneozyten und wird durch die Anzahl der Klebestreifenabriss, die notwendig sind, um einen bestimmten TEWL-Anstieg hervorzurufen, ausgedrückt. Ihr gegenüber gestellt wird die „SC cohesion“, die durch die während des Klebestreifenabrisses entfernte Masse des SC pro Klebescheibe definiert ist (Fluhr und Elias 2002, Ghadially et al. 1995). Zur Bestimmung der SC-Masse finden eine Reihe von Untersuchungsmethoden Anwendung. Zum einen kann das Klebmedium zusammen mit dem entfernten SC-Material gewogen werden, dies ist zeitaufwendig und unterliegt einer Reihe von endogenen und exogenen Einflußfaktoren (Marttin et al. 1996, Tsai et al. 1991b). Von Dreher et al. (1998) wurde eine auf dem Bradford-Test beruhende kolorimetrische Proteinbestimmungsmethode beschrieben und eine gute Korrelation mit der gewogenen SC-Masse festgestellt; diese Methode ist zwar weniger aufwendig als das Wiegen, unterliegt aber ebenfalls einer Reihe von Einflußfaktoren. Von der Arbeitsgruppe um Lademann wurde schließlich eine spektroskopische Bestimmungsmethode entwickelt, die sich die Pseudoabsorption von auf Klebmedien befindlichen SC-Partikeln bei Durchleuchtung mit Licht einer Wellenlänge von 430 nm zu Nutze macht. Die SC-Partikel schwächen durch Beugung, Reflektion und Streuung das ausgesandte Licht; diese Schwächung (Pseudoabsorption) ist proportional zur SC-Masse auf den Klebmedien und korreliert

sehr gut mit den durch Wiegen bestimmten SC-Massen (Breternitz et al. 2007, Bornkessel et al. 2005, Jacobi et al. 2003, Weigmann et al. 1999).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgte (neben den bereits besprochenen Studien zu TEWL-Veränderungen beim Klebestreifenabrißtest mit verschiedenen Anpreßmethoden und Klebematerialien an unterschiedlichen Körperregionen) die Bestimmung der jeweils entfernten SC-Masse mittels des erwähnten kolorimetrischen Tests und der spektroskopischen Methode. Dabei fanden sich folgende Beobachtungen: Applikationsmethoden, die eine stärkere Barrierschädigung bewirkten, entfernten auch eine größere SC-Masse; anders ausgedrückt, Anpreßmethoden die zu einer stärkeren Beeinträchtigung der SC-Integrität führten, bewirkten auch eine stärkeren Veränderung der SC-Kohäsion. Dies war sowohl für unterschiedliche Anpreßdrücke und -zeiten als auch für verschiedene Methoden des Anpressens der Klebescheiben nachweisbar. Auch für die unterschiedlichen getesteten Körperregionen galt dieser Zusammenhang. Für die neben den D-Squame®-Klebescheiben untersuchten Klebematerialien können bezüglich der kolorimetrischen und spektroskopischen Untersuchungen nur eingeschränkte Aussagen getroffen werden: das Blenderm®-Pflaster eignete sich aufgrund seiner nicht-transparenten Struktur und der unterschiedlichen Größe der Pflaster für beide Methoden nicht, das Corneofix®-Pflaster bewirkte jeweils nur sehr geringe Veränderungen der untersuchten Parameter. Weiterhin konnten wir beobachten, daß mit zunehmender Abrißzahl die Masse des entfernten SC abnahm; dies konnte sowohl im kolorimetrischen als auch im spektroskopischen Test gezeigt werden. Die Ursache dieser Abnahme liegt in den in tieferen SC-Schichten größeren Kohäsionskräften zwischen den Zellen des SC, die überwiegend über Desmosomen hergestellt wird, begründet (Bashir et al. 2001, Kalia et al. 2001, King et al. 1979). Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, daß diese Abnahme der entfernten SC-Masse mit zunehmender Tiefe nicht linear verläuft (Bashir et al. 2001, Marttin et al. 1996, Tsai et al. 1991b): in den oberflächlichen Schichten des SC wird überproportional viel SC-Masse entfernt, während in tiefen Schichten eine deutlich geringere SC-Masse an den Klebematerialien haften bleibt. Dies konnte mit den Beobachtungen aus der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Insbesondere durch die Klebestreifenabrisse, die die in Desquamation befindlichen SC-Anteile erfassen, wird bei gleichbleibender Adhäsionskraft (durch gleichbleibenden Anpreßdruck, -zeit

und -methode) eine überproportional große SC-Protein-Masse entfernt. Die Abnahme der SC-Masse zeigt im Verlauf des Klebestreifenabrisses inverse Veränderungen zum TEWL, dieser zeigt nach nur langsamem Anstieg bei Entfernung der oberflächlichen SC-Schichten eine nicht-lineare, überproportionale Zunahme in den tieferen SC-Schichten. Schwindt et al. (1998) fanden eine hohe Korrelation zwischen $1/\text{TEWL}$ und der entfernten SC-Dicke sowie einen linearen Zusammenhang zwischen $1/\text{TEWL}$ und der Masse entfernten SC-Materials, und konnten ebenso wie Kalia et al. (1996) darstellen, daß trotz morphologischer Unterschiede innerhalb des SC dieses als homogene Barriere für das Durchtreten von Wasser fungiert.

Kolorimetrische und spektroskopische SC-Massen-Bestimmung korrelierten in der vorliegenden Arbeit gut. Allerdings wurden mit der kolorimetrischen Methode in der Regel niedrigere SC-Massen bestimmt als mit der spektroskopischen Methode. Auch waren Abweichungen der gefundenen SC-Massen von den in der Literatur berichteten, überwiegend gravimetrisch bestimmten SC-Massen zu beobachten. Ergebnisse der beiden verwendeten alternativen Methoden zur Bestimmung der durch den Klebestreifenabriß entfernten SC-Massen sind bisher jeweils nur von zwei Arbeitsgruppen publiziert (Breternitz et al. 2007, Jacobi et al. 2003, Bashir et al. 2001, Dreher et al. 1998). Insbesondere die spektroskopische Bestimmungsmethode erscheint im Vergleich zu den anderen vorgestellten Methoden als verlässliche, wenig zeitaufwendige und kostengünstige Methode zur Bestimmung der durch Klebestreifenabriss entfernten SC-Masse. Eine kürzlich vorgestellte Infrarot-densitometrische Technik (Voegeli et al. 2009, Voegeli et al. 2007) kann möglicherweise ähnlich schnell und genau SC-Protein-Mengen bestimmen. Weitere Untersuchungen zum Vergleich der verschiedenen Methoden zur SC-Massen-Bestimmung sind zu empfehlen.

6 Schlußfolgerung

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß verschiedene Faktoren die Auswirkungen von Klebestreifenabrissen des SC deutlich beeinflussen. Wir konnten zeigen, daß verschiedene Anpreßdrücke, -zeiten und -methoden, verschiedenen Klebematerialien sowie die Durchführung von Klebestreifenabrissen in verschiedenen Körperregionen zu unterschiedlich starken Schädigungen der SC-Barrierefunktion (SC-Integrität) und der SC-Kohäsion führen. Dabei resultieren höhere Anpreßdrücke ebenso wie längere Anpreßzeiten in einer stärkeren Barrierschädigung. Auch durch Modifikation der Anpreßmethoden kann eine unterschiedlich ausgeprägte Schädigung der SC-Barriere erreicht werden. Die untersuchten Klebematerialien unterscheiden sich deutlich in ihrer Fähigkeit, die SC-Barriere zu stören, wobei die Benutzung speziell für den Klebestreifenabriß entwickelter Klebemedien zu einer stärkeren Barriestörung führt. Durch Unterschiede in der Morphologie des SC in verschiedenen Körperregionen wird bei Beibehaltung aller anderen Applikationsfaktoren eine unterschiedlich starke Barrierschädigung verursacht. Durch eine 24stündige okklusive Vorbehandlung wird die durch die Klebestreifenabrisse hervorgerufene SC-Barriestörung verstärkt.

Diese verschiedenen Einflußfaktoren sollten bei der Durchführung des Klebestreifenabrißtests im Rahmen von hautphysiologischen und dermatopharmakokinetischen Untersuchungen berücksichtigt und auch angegeben werden. Nur so ist eine Vergleichbarkeit von Ergebnissen verschiedener Arbeitsgruppen möglich. Abschließend soll ein standardisiertes Verfahren für den Klebestreifenabrißtest entworfen werden.

Zunächst sind Anpreßdruck und -zeit als wichtige Einflußfaktoren zu beachten. Ausreichende Anpreßdrücke und -zeiten sind von Nöten. Bei zu geringem Anpreßdruck (bzw. -zeit) besteht die Gefahr, daß tiefere SC-Schichten mit höheren Kohäsionskräften zwischen den Korneozyten nicht abgetragen werden. Insbesondere für Penetrationsstudien ist es aber wichtig, daß das gesamte SC entfernt wird, da nur so die jeweilige Eindringtiefe des zu untersuchenden Stoffes genau bestimmt werden kann. Ebenso ist besonders bei Penetrationsstudien die Beachtung der Hautfelderung wichtig. Diese führt dazu, daß „Berge“ und „Täler“ im Relief des SC entstehen und

daß sich einerseits somit Korneozyten aus gleichen SC-Schichten auf unterschiedlichen Höhenniveaus innerhalb des SC finden und andererseits mit einem abgerissenen Klebestreifen SC-Material aus unterschiedlichen Tiefen abgetragen wird. Die Benutzung eines Rollers zum Andrücken der Klebefolien kann durch Glattziehen und Straffung der Haut den Einfluß der Hautfelderung aufheben (Lademann et al. 2002). Aus diesen Gründen wird zum Anpressen der Klebemedien die Verwendung eines genügend schweren (mindestens 500 bis 600 g wiegenden) Rollers empfohlen, mit dem vier Mal über das Klebemedium gefahren wird. Zwar wird durch das Andrücken der Klebescheiben mit dem Daumen ebenfalls ein Ausgleich der Hautfelderung erfolgen, allerdings ist bei dieser Methode die Standardisierung des Anpreßdrucks naturgemäß schwierig. Löffler et al. (2004) konnten in ihrer Arbeit zeigen, daß die SC-Integrität als Ausdruck der TEWL-Veränderungen auch von der Geschwindigkeit, mit der die Klebescheiben von der Haut abgezogen werden, abhängig ist. Dabei führte ein schnelles Abreißen der Klebescheiben bei gleichem Anpreßdruck und –dauer zu einer signifikant niedrigeren Barrierschädigung als ein langsames Abreißen. Dieser Parameter wurde in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Für ein standardisiertes Testverfahren wird im Hinblick auf die zitierten Untersuchungsergebnisse ein langsames Abreißen der Klebescheiben empfohlen. Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen frühere Studien, die zeigen konnten, daß Klebestreifenuntersuchungen in verschiedenen Körperregionen nicht unmittelbar vergleichbar sind. Die Wahl der Region wird sich nach dem Gegenstand der jeweiligen Untersuchung richten müssen. Generell kann die Untersuchung am Unterarm empfohlen werden, wobei bei Verwendung mehrerer Testfelder eine Randomisierung der Felder analog zur vorliegenden Studie erfolgen sollte. Neben den genannten Einflußfaktoren sind interindividuelle Unterschiede im Ausmaß der Barrierschädigung nicht zu vernachlässigen. Diese sind bei der Größe der zu untersuchenden Studienpopulation zu berücksichtigen.

7 Literaturverzeichnis

Agner T, Damm P, Skouby SO. 1991. Menstrual cycle and skin reactivity. *J Am Acad Dermatol*, 24 (4):566-570.

Agner T, Serup J. 1993. Time course of occlusive effects on skin evaluated by measurement of transepidermal water loss (TEWL). Including patch tests with sodium lauryl sulphate and water. *Contact Dermatitis*, 28 (1):6-9.

Bashir S, Chew A, Anigbogu A, Dreher F, Maibach H. 2001. Physical and physiological effects of stratum corneum tape stripping. *Skin Res Technol*, 7 (1):40-48.

Batt M, Fairhurst E. 1986. Hydration of the stratum corneum. *Int J Cosmet Sci*, 8 (6):253-264.

Berardesca E. 1997. EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Res Technol*, 3 (2):126-132.

Black D, Del Pozo A, Lagarde JM, Gall Y. 2000. Seasonal variability in the biophysical properties of stratum corneum from different anatomical sites. *Skin Res Technol*, 6 (2):70-76.

Bornkessel A, Flach M, Arens-Corell M, Elsner P, Fluhr J. 2005. Functional assessment of a washing emulsion for sensitive skin: mild impairment of stratum corneum hydration, pH, barrier function, lipid content, integrity and cohesion in a controlled washing test. *Skin Res Technol*, 11 (1):53-60.

Bouwstra JA, Ponc M. 2006. The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochim Biophys Acta*, 1758 (12):2080-2095.

Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram protein quantities utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal Biochem*, 72 (1-2):248-254.

Breternitz M, Flach M, Prassler J, Elsner P, Fluhr J. 2007. Acute barrier disruption by adhesive tapes is influenced by pressure, time and anatomical location: integrity and cohesion assessed by sequential tape stripping. A randomized, controlled study. *Br J Dermatol*, 156 (2):231-240.

Bucks D, McMaster J, Maibach H, Guy R. 1988. Bioavailability of topically administered steroids: a "mass balance" technique. *J Invest Dermatol*, 91 (1):29-33.

Chuong C, Nickoloff B, Elias P, Goldsmith L, Macher E, Maderson P, Sundberg J, Tagami H, Plonka P, Thestrup-Pederson K, Bernard B, Schroder J, Dotto P, Chang C, Williams M, Feingold K, King L, Kligman A, Rees J, Christophers E. 2002. What is the 'true' function of skin? *Exp Dermatol*, 11 (2):159-187.

Courage W. 1994. Hardware and Measuring Principle: Corneometer. In: Elsner P, Berardesca E, Maibach H, Hrsg. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum corneum*. Erste Aufl. Boca Raton: CRC Press, 171-176.

Courage + Khazaka GmbH. 2003. Bedienungsanleitung Tewameter® TM 300. Courage + Khazaka GmbH, Köln.

Courage + Khazaka GmbH. 2001. Bedienungsanleitung Corneometer® CM 825 / Skin-pH-Meter® PH 900. Courage + Khazaka GmbH, Köln

Denda M, Tsuchiya T. 2000. Barrier recovery rate varies time-dependently in human skin. *Br J Dermatol*, 142 (5):881-884.

Distante F, Berardesca E. 1995. Hydration. In: Berardesca E, Elsner P, Wilhelm K, Maibach H, Hrsg. *Bioengineering of the Skin: Methods and instrumentation*. Boca Raton: CRC Press. 5-11

Dreher F, Arens A, Hostynek J, Mudumba S, Ademola J, Maibach H. 1998. Colorimetric method for quantifying human Stratum corneum removed by adhesive-tape stripping. *Acta Derm Venereol*, 78 (3):186-189.

Ebling F. 1992. Functions of the Skin. In: Champion R, Burton J, Ebling F, Hrsg. *Rook's Textbook of Dermatology*. Fünfte Aufl. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 125-156.

Egelrud T. 2000. Desquamation in the stratum corneum. *Acta Derm Venereol Suppl* (Stockh), 208:44-45.

Ehlers C, Ivens U, Moller M, Senderovitz T, Serup J. 2001. Comparison of two pH meters used for skin surface pH measurement: the pH meter 'pH900' from Courage & Khazaka versus the pH meter '1140' from Mettler Toledo. *Skin Res Technol*, 7 (2):84-89.

Elias P, Feingold K, Fluhr J. 2003. Skin as an organ of protection. In: Friedberg I, Eisen A, Wolff K, Austen K, Goldsmith L, Katz S, Hrsg. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. Sechste Aufl. New York: McGraw-Hill, 107-118.

Elsner P. 1995. Chromametry: Hardware, Measuring Principle, and Standardization of Measurements. In: Berardesca E, Elsner P, Maibach H, Hrsg. *Bioengineering of the Skin: Cutaneous Blood Flow and Erythema*. CRC Press, 247-252.

Feingold K. 2007. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. *J Lipid Res*, 48 (12):2531-2546.

Fluhr J, Gloor M, Lehmann L, Lazzerini S, Distante F, Berardesca E. 1999a. Glycerol accelerates recovery of barrier function in vivo. *Acta Derm Venereol*, 79 (6):418-421.

Fluhr J, Gloor M, Lazzerini S, Kleesz P, Grieshaber R, Berardesca E. 1999b. Comparative study of five instruments measuring stratum corneum hydration (Corneometer CM 820 and CM 825. Skicon 200, Nova DPM 2003, DermaLab). Part I. In vitro. *Skin Res Technol*, 5 (3):161-170.

Fluhr J, Kao J, Jain M, Ahn S, Feingold K, Elias P. 2001a. Generation of free fatty acids from phospholipids regulates stratum corneum acidification and integrity. *J Invest Dermatol*, 117 (1):44-51.

Fluhr J, Dickel H, Kuss O, Weyher I, Diepgen T, Berardesca E. 2002. Impact of anatomical location on barrier recovery, surface pH and stratum corneum hydration after acute barrier disruption. *Br J Dermatol*, 146 (5):770-776.

Fluhr J, Elias P. 2002. Stratum corneum pH: Formation and Function of the 'Acid Mantle'. *Exogenous Dermatology*, 1 (4):163-175.

Fluhr J, Bankova L, Elias P. 2005. Stratum corneum pH and Ions - Distribution and Importance. In: Fluhr J, Berardesca E, Elsner P, Hrsg. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum: Water and Stratum Corneum*. Zweite Aufl. Boca Raton: CRC Press, 27-47.

Fluhr J, Feingold K, Elias P. 2006. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent in vivo and ex vivo models. *Exp Dermatol*, 15 (7):483-492.

Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm K, Takiwaki H, Serup J. 1996. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis*, 35 (1):1-10.

Ghadially R, Brown B, Sequeira-Martin S, Feingold K, Elias P. 1995. The aged epidermal permeability barrier. Structural, functional, and lipid biochemical abnormalities in humans and a senescent murine model. *J Clin Invest*, 95 (5):2281-2290.

Goh CL, Chia SE. 1988. Skin irritability to sodium lauryl sulphate--as measured by skin water vapour loss-by sex and race. *Clin Exp Dermatol*, 13 (1):16-19.

Grubauer G, Elias P, Feingold K. 1989. Transepidermal water loss: the signal for recovery of barrier structure and function. *J Lipid Res*, 30 (3):323-333.

Hanau A, Stucker M, Gambichler T, Orlikov A, Hoffmann K, Altmeyer P, Freitag M. 2003. Nichtinvasive Diagnostik von Hautfunktionen. *Hautarzt*, 54 (12):1211-1223.

Harding C. 2004. The stratum corneum: structure and function in health and disease. *Dermatol Ther*, 17 Suppl 1:6-15.

Holbrook K, Odland G. 1974. Regional differences in the thickness (cell layers) of the human stratum corneum: an ultrastructural analysis. *J Invest Dermatol*, 62 (4):415-422.

Hostynek JJ, Dreher F, Maibach HI. 2006. Human stratum corneum penetration by copper: in vivo study after occlusive and semi-occlusive application of the metal as powder. *Food Chem Toxicol*, 44 (9):1539-1543.

Houben E, De Paepe K, Rogiers V. 2007. A keratinocyte's course of life. *Skin Pharmacol Physiol*, 20 (3):122-132.

Hunter R, Pinkus H, Heise Steele C. 1956. Examination of the epidermis by the strip method. III. The number of keratin cells in the human epidermis. *J Invest Dermatol*, 27 (1):31-34.

Jacobi U, Meykadeh N, Sterry W, Lademann J. 2003. Effect of the vehicle on the amount of stratum corneum removed by tape stripping. *J Dtsch Dermatol Ges*, 1 (11):884-889.

Jacobi U, Gautier J, Sterry W, Lademann J. 2005. Gender-related differences in the physiology of the stratum corneum. *Dermatology*, 211 (4):312-317.

Junqueira L, Carneiro J. 2005. Histologie. Sechste Aufl. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag.

Kalia Y, Pirot F, Guy R. 1996. Homogenous Transport in a Heterogenous Membrane: Water Diffusion Across Human Stratum Corneum In Vivo. *Biophys J*, 71 (5):2692-2700.

Kalia YN, Alberti I, Naik A, Guy RH. 2001. Assessment of topical bioavailability in vivo: the importance of stratum corneum thickness. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 14 Suppl 1:82-86.

Kanitakis J. 2002. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European Journal of Dermatology*, 12 (4):390-401.

King C, Barton S, Nicholls S, Marks R. 1979. The change in properties of the stratum corneum as a function of depth. *Br J Dermatol*, 100 (2):165-172.

Kligman A. 1994. Hydration injury to human skin. In: Elsner P, Berardesca E, Maibach H, Hrsg. *Bioengineering of the human skin: Water and the stratum corneum*. Erste Aufl. Boca Raton: CRC Press, 251-255.

Lademann J, Ilgevicus A, Zurbau O, Liess HD, Schanzer S, Weigmann HJ, Antoniou C, Pelchrzim RV, Sterry W. 2006. Penetration studies of topically applied substances: Optical determination of the amount of stratum corneum removed by tape stripping. *J Biomed Opt*, 11 (5):054026.

Lademann J, Weigmann H, Lindemann U, H. A, Tsikrikas G, Schaefer H, Sterry W. 2002. Investigations on the influences of furrows and wrinkles when quantifying penetration of drugs and cosmetics by tape stripping. In: Brain K, Walters K, Hrsg. *Perspectives in Percutaneous Penetration*. Cardiff: STS Publishing, 49.

Lademann J, Jacobi U, Surber C, Weigmann HJ, Fluhr JW. 2009. The tape stripping procedure--evaluation of some critical parameters. *Eur J Pharm Biopharm*, 72 (2):317-323.

Legrain V, Michel S, Ortonne JP, Reichert U. 1991. Intra- and inter-individual variations in cornified envelope peptide composition in normal and psoriatic skin. *Arch Dermatol Res*, 283 (8):512-515.

Lindemann U, Weigmann H, Schaefer H, Sterry W, Lademann J. 2003. Evaluation of the Pseudo-Absorption Method to Quantify Human Stratum corneum Removed by Tape Stripping Using Protein Absorption. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 16 (4):228-236.

Löffler H, Dreher F, Maibach H. 2004. Stratum corneum adhesive tape stripping: influence of anatomical site, application pressure, duration and removal. *Br J Dermatol*, 151 (4):746-752.

Marks R. 2004. The stratum corneum barrier: the final frontier. *J Nutr*, 134 (8 Suppl):2017S-2021S.

Marttin E, Neelissen-Subnel M, De Haan F, Boddè H. 1996. A Critical Comparison of Methods to Quantify Stratum corneum Removed by Tape Stripping. *Skin Pharmacol*, 9:69-77.

Matousek J, Campbell K. 2002. A comparative review of cutaneous pH. *Vet Dermatol*, 13 (6):293-300.

McGrath J, Eady R, Pope F. 2004. Anatomy and Organization of Human Skin. In: Burns D, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, Hrsg. *Rook's Textbook of Dermatology*. Siebte Aufl. Oxford: Blackwell Science Ltd., 3.1-3.84.

Menon G, Feingold K, Elias P. 1992. Lamellar body secretory response to barrier disruption. *J Invest Dermatol*, 98 (3):279-289.

Menon G, Elias P, Feingold K. 1994. Integrity of the permeability barrier is crucial for maintenance of the epidermal calcium gradient. *Br J Dermatol*, 130 (2):139-147.

Michel S, Schmidt R, Shroot B, Reichert U. 1988. Morphological and biochemical characterization of the cornified envelopes from human epidermal keratinocytes of different origin. *J Invest Dermatol*, 91 (1):11-15.

Miller D. 2006. Application of Adhesive Techniques to Harvest Stratum Corneum Material. In: Serup J, Jemec G, Grove G, Hrsg. *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin*. Zweite Aufl. Boca Raton: CRC Press, 371-374.

Milstone LM. 2004. Epidermal desquamation. *J Dermatol Sci*, 36 (3):131-140.

Pagnoni A, Kligman AM, el Gammal S, Stoudemayer T. 1994. Determination of density of follicles on various regions of the face by cyanoacrylate biopsy: correlation with sebum output. *Br J Dermatol*, 131 (6):862-865.

Parra J, Paye M. 2003. EEMCO guidance for the in vivo assessment of skin surface pH. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 16 (3):188-202.

Perkins MA, Osterhues MA, Farage MA, Robinson MK. 2001. A noninvasive method to assess skin irritation and compromised skin conditions using simple tape adsorption of molecular markers of inflammation. *Skin Res Technol*, 7 (4):227-237.

Pierard G. 1998. EEMCO guidance for the assessment of skin colour. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 10 (1):1-11.

Pinkus H. 1951. Examination of the epidermis by the strip method of removing horny layers. I. Observations on thickness of the horny layer, and on mitotic activity after stripping. *J Invest Dermatol*, 16 (6):383-386.

Pinkus H. 1952. Examinations of the epidermis by the strip method. II. Biometric data on regeneration of the human epidermis. *J Invest Dermatol*, 19 (6):431-446.

Pinkus H. 1966. Tape stripping in dermatological research: A review with emphasis on epidermal biology. *Giorn Ital Derm*, 107:1115-1126.

Pinnagoda J, Tupker R, Agner T, Serup J. 1990. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis*, 22 (3):164-178.

Pinson E. 1942. Evaporation from human skin with sweat glands inactivated. *Am J Physiol*, 137 (3):492-503.

Pirot F, Kalia Y, Stinchcomb A, Keating G, Bunge A, Guy R. 1997. Characterization of the permeability barrier of human skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94 (4):1562-1567.

Plewig G, Marples R. 1970. Regional differences of cell sizes in the human stratum corneum. Part I. *J Invest Dermatol*, 54 (1):13-18.

Plewig G. 1970. Regional differences of cell sizes in the human stratum corneum. II. Effects of sex and age. *J Invest Dermatol*, 54 (1):19-23.

Praessler J, Fluhr J. 2005. Occlusion. In: Fluhr J, Berardesca E, Elsner P, Hrsg. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum*. Zweite Aufl. Boca Raton: CRC Press, 49-59.

Rawlings A, Harding C. 2004. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther*, 17 Suppl 1:43-48.

Reed J, Ghadially R, Elias P. 1995. Skin type, but neither race nor gender influence epidermal permeability barrier function. *Arch Dermatol*, 131 (10):1134-1138.

Reichrath J. 2007. Vitamin D and the skin: an ancient friend, revisited. *Exp Dermatol*, 16 (7):618-625.

Rieger T, Teichmann A, Richter H, Schanzer S, Sterry W, Lademann J. 2007. Evaluation of barrier creams - introduction and comparison of 3 in vivo methods. *Contact Dermatitis*, 56 (6):347-354.

Rogiers V. 2001. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 14 (2):117-128.

Rogiers V, Houben E, de Paepe K. 2005. Transepidermal Water Loss Measurements in Dermato-Cosmetic Sciences. In: Fluhr J, Berardesca E, Elsner P, Hrsg. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum corneum*. Zweite Aufl. Boca Raton: CRC Press, 63-76.

Rougier A, Dupuis D, Lotte C, Roguet R, Wester RC, Maibach HI. 1986. Regional variation in percutaneous absorption in man: measurement by the stripping method. *Arch Dermatol Res*, 278 (6):465-469.

Sandby-Moller J, Poulsen T, Wulf H. 2003. Epidermal thickness at different body sites: relationship to age, gender, pigmentation, blood content, skin type and smoking habits. *Acta Derm Venereol*, 83 (6):410-413.

Schaefer H, Redelmeier T. 1996. *Skin barrier*. Basel: Karger.

Schmid-Wendtner MH, Korting HC. 2006. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacol Physiol*, 19 (6):296-302.

Schwindt D, Wilhelm K, Maibach H. 1998. Water diffusion characteristics of human stratum corneum at different anatomical sites in vivo. *J Invest Dermatol*, 111 (3):385-389.

Serup J, Agner T. 1990. Colorimetric quantification of erythema--a comparison of two colorimeters (Lange Micro Color and Minolta Chroma Meter CR-200) with a clinical scoring scheme and laser-Doppler flowmetry. *Clin Exp Dermatol*, 15 (4):267-272.

Shah VP, Flynn GL, Yacobi A, Maibach HI, Bon C, Fleischer NM, Franz TJ, Kaplan SA, Kawamoto J, Lesko LJ, Marty JP, Pershing LK, Schaefer H, Sequeira JA, Shrivastava SP, Wilkin J, Williams RL. 1998. Bioequivalence of topical dermatological dosage forms--methods of evaluation of bioequivalence. *Pharm Res*, 15 (2):167-171.

Simon E. 1997. Wärmehaushalt und Thermoregulation. In: Schmidt R, Thews G, Hrsg. *Physiologie des Menschen*. 27te Aufl. Berlin: Springer-Verlag, 649-671.

Surber C, Schwarb F, Smith E. 2001. Tape-stripping technique. *J Toxicol Cut Ocular Toxicol*, 20 (4):461-474.

Tanaka M, Zhen YX, Tagami H. 1997. Normal recovery of the stratum corneum barrier function following damage induced by tape stripping in patients with atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 136 (6):966-967.

Tokumura F, Yoshiura Y, Homma T, Nukatsuka H. 2006. Regional differences in adhesive tape stripping of human skin. *Skin Res Technol*, 12 (3):178-182.

Tordjeman P, Papon E, Villenave J. 2000. Tack properties of pressure-sensitive adhesives. *J Pol Sci Polym Phys*, 38 (9):1201-1208.

Treffel P, Gabard B. 2000. Skin hydration. In: Gabard B, Elsner P, Surber C, Treffel P, Hrsg. *Dermatopharmacology of Topical Preparations*. Berlin: Springer, 319.

Tsai J, MJ. C, Weiner N, Flynn G, Ferry J. 1991a. Solvent effects on the harvesting of stratum corneum from hairless mouse skin through adhesive tape stripping in vitro. *Int J Pharm*, 68 (1-3):127-133.

Tsai J, Weiner N, Flynn G, Ferry J. 1991b. Properties of adhesive tapes used for stratum corneum stripping. *Int J Pharm*, 72 (3):227-231.

van der Molen R, Spies F, van 't Noordende J, Boelsma E, Mommaas A, Koerten H. 1997. Tape stripping of human stratum corneum yields cell layers that originate from various depths because of furrows in the skin. *Arch Dermatol Res*, 289 (9):514-518.

van der Walk P, Maibach H. 1990. A functional study of the skin barrier to evaporative water loss by means of repeated cellophane-tape stripping. *Clin Exp Dermatol*, 15 (3):180-182.

van der Walk P, Kucharekova M, Tupker R. 2005. Transepidermal Water Loss and Its Relation to Barrier Function and Skin Irritation. In: Fluhr J, Berardesca E, Elsner P, Hrsg. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum corneum*. Zweite Aufl. Boca Raton: CRC Press, 97-104.

Voegeli R, Heiland J, Doppler S, Rawlings AV, Schreier T. 2007. Efficient and simple quantification of stratum corneum proteins on tape strippings by infrared densitometry. *Skin Res Technol*, 13 (3):242-251.

Voegeli R, Rawlings AV, Breternitz M, Doppler S, Schreier T, Fluhr JW. 2009. Increased stratum corneum serine protease activity in acute eczematous atopic skin. *Br J Dermatol*, 161 (1):70-77.

Warner R, Boissy Y, Lilly N, Spears M, McKillop K, Marshall J, Stone K. 1999. Water disrupts stratum corneum lipid lamellae: damage is similar to surfactants. *J Invest Dermatol*, 113 (6):960-966.

Warner R, Stone K, Boissy Y. 2003. Hydration disrupts human stratum corneum ultrastructure. *J Invest Dermatol*, 120 (2):275-284.

Webster I. 1997. Recent developments in pressure-sensitive adhesives for medical applications. *Int J Adhesion Adhesives*, 17 (1):69-73.

Weigand D, Gaylor J. 1973. Removal of stratum corneum in vivo: an improvement on the cellophane tape stripping technique. *J Invest Dermatol*, 60 (2):84-87.

Weigmann H, Lademann J, Meffert H, Schaefer H, Sterry W. 1999. Determination of the Horny Layer Profile by Tape Stripping in Combination with Optical Spectroscopy in the Visible Range as a Prerequisite to Quantify Percutaneous Absorption. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 12 (1-2):34-45.

Weigmann H, Lindemann U, Antoniou C, Tsikrikas G, Stratigos A, Katsambas A, Sterry W, Lademann J. 2003. UV/VIS Absorbance Allows Rapid, Accurate, and Reproducible Mass Determination of Corneocytes Removed by Tape Stripping. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, 16 (4):217-227.

Welzel J. 1995. pH and ions. In: Berardesca E, Hrsg. *Bioengineering of the skin: Methods and Instrumentation*. Boca Raton: CRC Press, 91-93.

Wertz P. 2006. Biochemistry of human stratum corneum lipids. In: Elias P, Feingold K, Hrsg. *Skin barrier*. New York: Taylor & Francis, 33-42.

Wesley NO, Maibach HI. 2003. Racial (ethnic) differences in skin properties: the objective data. *Am J Clin Dermatol*, 4 (12):843-860.

Wilson D, Berardesca E, Maibach HI. 1988. In vitro transepidermal water loss: differences between black and white human skin. *Br J Dermatol*, 119 (5):647-652.

Wolf J. 1939. Die innere Struktur der Zellen des Stratum desquamans der menschlichen Epidermis. *Z mikroskop-anat Forsch*, 46:170-202.

Ya-Xian Z, Suetake T, Tagami H. 1999. Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin - relationship to the anatomical location on the body, age, sex and physical parameters. *Arch Dermatol Res*, 291 (10):555-559.

Yosipovitch G, Xiong G, Haus E, Sackett-Lundeen L, Ashkenazi I, Maibach H. 1998. Time-dependent variations of the skin barrier function in humans: transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and skin temperature. *J Invest Dermatol*, 110 (1):20-23.

Zhai H, Leow YH, Maibach HI. 1998. Human barrier recovery after acute acetone perturbation: an irritant dermatitis model. *Clin Exp Dermatol*, 23 (1):11-13.

Zhai H, Maibach H. 2002. Occlusion vs. skin barrier function. *Skin Res Technol*, 8 (1):1-6.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Aufbau der Meßsonde des Tewameters®	16
Abbildung 3.1: Darstellung der Testfelder am Unterarm..	26
Abbildung 3.2: Die zum Anpressen der Klebescheiben verwendeten Stempel mit unterschiedlicher Federkraft sowie der Roller	26
Abbildung 4.1: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke und –zeiten auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung	34
Abbildung 4.2: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke und –zeiten auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH.....	36
Abbildung 4.3: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßmethoden auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung.....	37
Abbildung 4.4: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßmethoden auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH	39
Abbildung 4.5: Auswirkungen unterschiedlicher Klebematerialien auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung.....	40
Abbildung 4.6: Auswirkungen unterschiedlicher Klebematerialien auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH	41
Abbildung 4.7: Auswirkungen unterschiedlicher anatomischer Lokalisationen auf das Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung	42
Abbildung 4.8: Auswirkungen unterschiedlicher anatomischer Lokalisationen auf Hautfarbe, Hornhautfeuchte und Oberflächen-pH.....	44
Abbildung 4.9: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke, -zeiten, -methoden, Klebmaterialien und anatomischer Lokalisationen auf die SC-Kohäsion (kolorimetrischer Proteinassay)	45
Abbildung 4.10: Auswirkungen unterschiedlicher Anpreßdrücke, -zeiten, -methoden, Klebmaterialien und anatomischer Lokalisationen auf die SC-Kohäsion (optische Spektroskopie).....	46
Abbildung 4.11: Auswirkungen einer 24stündigen Okklusionsbehandlung auf die Schädigung der SC-Barriere durch Klebestreifenabrisse	48
Abbildung 4.12: Auswirkungen einer 24stündigen Okklusionsbehandlung auf die SC- Kohäsion (kolorimetrischer Protein-Assay und optische Spektroskopie)	48

Abbildung 4.13: Regeneration der SC-Barriere nach vorheriger Schädigung durch Klebestreifenabrisse mit unterschiedlichen Anpreßdrücken und mit und ohne Okklusion	49
Abbildung 5.1: Darstellung interindividueller Unterschiede im Ausmaß der SC-Barriere-Schädigung für einen geringen und einen größeren Anpreßdruck	57

9 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich,

daß mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

daß ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

daß mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: PD Dr. med. Joachim Fluhr.

daß die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und daß Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

daß ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

daß ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Erfurt, 7. Dezember 2010

Michael Flach

10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Elsner, Direktor der Klinik für Hautkrankheiten am Universitätsklinikum Jena, danke ich herzlich für die Möglichkeit der Promotion an seiner Klinik.

Mein Betreuer, Herr PD Dr. med. Fluhr, seinerzeit Oberarzt an der Klinik für Hautkrankheiten am Universitätsklinikum Jena sowie Leiter des Hautphysiologischen Labors und jetzt Medizinischer Direktor der bioskin GmbH, hat diese Arbeit zu jedem Zeitpunkt engagiert betreut. Ihm gilt mein tiefer Dank.

Frau Dr. med. Prässler aus der Klinik für Hautkrankheiten am Universitätsklinikum Jena hat mir besonders in der Anfangsphase der Arbeit wertvolle Hinweise und Unterstützung gegeben, wofür ich ihr sehr danke.

Frau PD Dr. rer. nat. Hipler, Frau Knöll und Frau Winter aus dem Labor der Klinik für Hautkrankheiten am Universitätsklinikum Jena gilt mein Dank für die Benutzung des Labors sowie Ratschläge und Anregungen zur Durchführung der kolorimetrischen Messungen.

Herrn Prof. Dr.-Ing. Lademann, Frau Dr. Jacobi und Herrn Dr. Weigmann vom Zentrum für experimentelle und angewandte Hautphysiologie an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin bin ich für wertvolle Hinweise und Anregungen die spektroskopischen Untersuchungen der Klebescheiben betreffend zu Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr.-Ing. Ließ sowie Herrn Dr.-Ing. Ilgevitius aus der Fakultät Elektrotechnik und Informationstechnik der Universität der Bundeswehr in München danke ich für die Bereitstellung des Gerätes zur spektroskopischen Untersuchung und hilfreiche Hinweise zur Benutzung.